Lane Medical Library

DE VACCINATIE TEGEN CHOLERA LANGS DEN WEG VAN HET DARMKANAAL

STANFORD UNIVERSITY

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT
ter verkrijging van den graad van Doctor in de Geneeskunde aan de Universiteit van Amsterdam, op gezag van den Rector Magnificus Dr. R. C. BOER, Hoogleeraar in de Faculteit der Letteren en Wijsbegeerte, in het openbaar te verdedigen in de Aula der Universiteit op DONDERDAG 3 APRIL DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

PIERRE PEVERE
REN

AMSTERDAM — 1924 — S. I

DE VACCINATIE TEGEN CHOLERA LANGS DEN WEG VAN HET DARMKANAAL

DE VACCINATIE TEGEN CHOLERA LANGS DEN WEG VAN HET DARMKANAAL

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT
ter verkrijging van den graad van Doctor in de Geneeskunde aan de Universiteit van Amsterdam, op gezag van den Rector Magnificus Dr. R. C. BOER, Hoogleeraar in de Faculteit der Letteren en Wijsbegeerte, in het openbaar te verdedigen in de Aula der Universiteit op DONDERDAG 3 APRIL, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR, door

PIERRE PEVERELLI, *Arts*,
GEBOREN TE LEIDEN

AMSTERDAM — 1924 — S. L. VAN LOOY

Aan mijne Moeder,
Aan mijne Vrouw
en aan de nagedachtenis
van mijn Vader.

Bij het beëindigen van dit Proefschrift breng ik U, Hoogleeraren, Oud-Hoogleeraren, Lectoren en Privaat-docenten der Wis- en Natuurkundige en Medische Faculteit van de Universiteit te Utrecht mijn welgemeenden dank voor het onderwijs, dat ik van U mocht ontvangen.

U, Hooggeleerde VAN LOGHEM, Hooggeachte Promotor, die mij gelegenheid verschafte tijdens het volgen van den Leergang in Tropische Hygiëne en Bacteriologie dit onderwerp te bestudeeren, ben ik grooten dank verschuldigd voor de vrijheid, die Gij mij bij mijn werk liet, en voor den steun, dien ik steeds van U mocht ontvangen. Ik stel het op hoogen prijs bij U als assistent werkzaam te mogen zijn.

Hooggeleerde KUENEN, SWELLENGREBEL en SCHÜFFNER, U dank ik voor het onderricht in tropische vraagstukken, dat ik aan de afdeeling Tropische Hygiëne van het Koloniaal Instituut genoten heb, en voor de wijze, waarop Gij Uw taak vervuldet; Uw onderwijs is een voortdurende bezieling!

Tot slot een woord van hartelijken dank aan allen, met wie ik samenwerkte en wier hulpvaardigheid ik steeds zoozeer waardeerde.

INHOUD.

Blz.

I. Inleiding 11

II. De besmetting van proefdieren met cholera langs gastro-intestinalen weg. 13

III. Infectieproeven en vaccinatie langs gastro-intestinalen weg. 18
1. Bac. paratyphi B. 18
2. Bac. dysenteriae. 24
3. Bac. typhi. 32
4. Vibrio cholerae. 39

Eigen onderzoek:

IV. Eigenschappen van de gebruikte stammen. 45
Bepaling van de doodelijke dosis. 48
Verloop van de agglutininen. 48

V. De invloed van per os gegeven levende of gedoode vibrionen en rundergal op de vorming van antistoffen 50
1. levende vibrionen alleen. 53
2. gedoode vibrionen alleen. 54
3. alleen gal. 55
4. gal en intraveneus levende vibrionen. 55
5. gal en levende vibrionen per os. 56
6. gal en gedoode vibrionen per os. 61

VI. De invloed van de orale toediening van levende of gedoode vibrionen en rundergal op de resistentie tegenover een doodelijke dosis levende vibrionen 68

Blz.

VII. De verspreiding van de ingebrachte vibrionen over de verschillende organen: 78
bij normale konijnen. 79
bij meermalen intraveneus behandelde konijnen. 81
bij meermalen per os behandelde konijnen..... 81
bij na korten tijd opgeofferde konijnen..... 83

VIII. De invloed van gal en gedoode vibrionen, per os gegeven, op het ontstaan van antistoffen bij den mensch 87

IX. De invloed van gedoode vibrionen, per os gegeven, op het ontstaan van antistoffen bij den mensch 92

X. Slotbeschouwingen en conclusies 96

XI. Literatuuropgave 104

I. INLEIDING.

In de volgende studie wilde ik trachten iets bij te dragen tot de kennis van de vaccinatie tegen darmziekten, de cholera asiatica in het bijzonder, en wel langs de nieuwe wegen, die vooral door het werk van Besredka zijn gebaand.

De experimenteele grondslagen van deze methode, de vaccinatie langs den weg van het darmkanaal, zijn te zoeken in de proeven, waarbij men trachtte, de natuurlijke besmetting na te bootsen. Om de ontwikkelingsgeschiedenis van de eerste te volgen, moeten wij er dus de bestudeering van de laatste aan vooraf laten gaan.

Om de schakels tusschen beide te leggen, is het noodzakelijk, de infectie en vaccinatie bij de andere darmziekten na te gaan, daar juist hierbij de nieuwe methode het eerst gevonden en nader onderzocht is. Beschrijven we dus achtereenvolgens :

1. De infectie van proefdieren met cholera langs gastro-intestinalen weg.
2. De infectie met verwekkers van de andere ziekten, die in hoofdzaak in den darm zijn gelocaliseerd: typhus, paratyphus en dysenterie en de vaccinatie tegen bovengenoemde ziekten langs oralen weg.
3. De vaccinatie tegen cholera per os.

II. DE BESMETTING VAN PROEFDIEREN MET CHOLERA LANGS GASTRO-INTESTINALEN WEG.

Sinds Robert Koch in 1883 den kommabacil als verwekker van de cholera asiatica aantoonde, zijn tallooze proeven genomen om bij dieren deze ziekte experimenteel na te bootsen.

Het was bekend, dat de cholera onder de dieren niet spontaan voorkomt, en ook dat dieren, die in de onmiddellijke nabijheid van choleralijders leven, nooit door hen besmet worden.

Bovendien bleek al spoedig, dat zelfs groote hoeveelheden zeer virulent materiaal, langs intestinalen weg gegeven, de gebruikelijke proefdieren ongemoeid laten.

Om tóch besmetting langs dien weg te verkrijgen, moest men overgaan tot zeer ingrijpende maatregelen.

In 1884 gaven Nikati en Rietsch[1] een methode aan, die daaruit bestond, dat na laparotomie in het duodenum een reincultuur of dejecten van choleralijders ingespoten werden, al dan niet voorafgegaan door onderbinding van den ductus choledochus.

In beide gevallen kregen de dieren een heftige, specifieke enteritis, waaraan zij in korten tijd te gronde gingen.

Robert Koch[2] toonde in 1885 aan, dat dit alleen het geval was, wanneer de darm door een eenigszins ruwe techniek wat beschadigd werd: opereerde men voorzichtig, dan bleef de infectie uit. Bovendien gaf hij een eenvoudiger methode aan.

Allereerst neutraliseerde hij den maaginhoud van caviae met 5 c.M.^{3} van een 5 % sodaoplossing, om de bacterie-doodende werking van het maagsap te ontgaan, en, om de darmperistaltiek op te heffen, spoot hij nu nog per 200 gr. lichaamsgewicht 1 c.M.^{3} tinctura opii in.

Bracht hij daarna per sonde 5 c.M.^{3} van een 24 uur oude

bouilloncultuur in de maag, dan zag hij de dieren onder verschijnselen van diarrhee, collaps en hypothermie binnen 24 uur te gronde gaan.

Het spreekt vanzelf, dat een dergelijke wijze van besmetting verre van den natuurlijken modus infectionis afstaat, en dat de proeven, waarbij deze infectie als toetssteen moest dienen, voor het al of niet deugdelijk zijn van vaccinatie (Brieger, Kitasato, Wassermann, Klemperer e. a. eenerzijds, Pfeiffer u. Wassermann, Sobernheim e. a. anderzijds) daardoor aan waarde verloren.

Sobernheim[3] bereikte in 1893 hetzelfde effect als Koch, evenwel door toediening van gedoode vibrionen per os (p. 495), waaruit hij afleidt, dat de dood door intoxicatie en niet door vermeerdering van vibrionen ontstaat.

Een reactie op de gevolgde methodiek kwam eerst in 1894 door Cantacuzène en door Metchnikoff.

Cantacuzène[4] toonde aan, dat de op deze wijze verkregen ziekte een algemeene infectie is, die door de opiumnarcose in de hand gewerkt wordt. In het alkalisch milieu, begunstigd door de stagnatie als gevolg van de darmverlamming, heeft een welige groei van choleravibrionen plaats, die door hun endotoxinen heftig op het epitheelbekleedsel van den darmwand inwerken, wat tot desquamatie op groote schaal leidt, waardoor de vibrionen zich in de submucosa kunnen nestelen (waarin zij later, o.a. door onderzoekingen van Sanarelli[5], in darmcoupes in grooten getale werden aangetoond), p. 988.

Daar ondervinden ze van de zijde der door narcose in haar werking verlamde leucocyten geen tegenstand en dringen nu door weefsel en lymphbanen het organisme binnen, waar ze een algemeene infectie veroorzaken.

Cantacuzène toonde tevens aan, (blz. 139) dat een meermalen met tusschenpoozen van 10—15 dagen herhaalde injectie van choleravibrionen in de maag, de cavia immuniseerde tegen een peritoneale infectie, mits deze niet eerder dan 18 dagen na de laatste gastro-intestinale inspuiting plaats vond.

Ook METCHNIKOFF[6] toonde aan, dat opiumpreparaten de beweeglijkheid der leucocyten remmen. Zelfs gevaccineerde caviae worden door injectie van opiumpreparaten weer ontvankelijk voor infectie.

ZABOLOTNY[7] deelde in 1894 mede, dat de Spermophilus guttatus zeer gevoelig is voor infectie met choleravibrionen. Niet alleen dat intraperitoneale injectie van kleine hoeveelheden reeds doodelijk werkt, doch ook wanneer men ze enkele druppels cultuurvloeistof te drinken geeft, sterven ongeveer 50 % onder typische darmverschijnselen en hypothermie.

Nog gevoeliger werd het dier, wanneer de maaginhoud tevoren geneutraliseerd werd door een sodaoplossing.

Echter, alleen in bepaalde streken van Rusland, werd de Spermophilus gevonden, zoodat men in West-Europa naar middelen moest uitzien om proefdieren gevoelig te maken.

Uitgebreide onderzoekingen werden in dat zelfde jaar door METCHNIKOFF[8] verricht.

Na vele proefnemingen op caviae, jonge katten, jonge honden en muizen, met de vibrio Massaouah bleek, dat deze dieren bestand waren tegen een infectie per os.

Gebruikte hij konijnen, en wel de jonge dieren gedurende het drietal weken, dat ze zich aan de moederborst voeden, dan gelukte het hem, meer dan de helft een doodelijke ziekte te bezorgen met typische veranderingen in den darm, door choleracultuur aan den tepel te smeren, of ze door middel van een gebogen glasstaaf eenvoudig in de mondholte te brengen.

Bij caviae gelukte dat slechts gedurende de eerste levensdagen.

Dit verschil tusschen caviae en konijnen verklaarde Metchnikoff uit het feit, dat de pasgeboren caviae reeds na enkele dagen vast voedsel tot zich nemen, waardoor zich een darmflora ontwikkelt, die volgens hem op de choleravibrionen een antagoniste werking zou uitoefenen.

Konijnen daarentegen voeden zich gedurende 3 weken uitsluitend met moedermelk, die steriel is en bovendien bactericide eigenschappen bezit.

Kolle en Issaëff[9] kwamen tot dezelfde uitkomsten, en ook Sanarelli vond, dat, terwijl pasgeboren honden ontvankelijk zijn voor een besmetting met cholera, langs enterogenen weg toegediend, dit na 36 uur al onmogelijk wordt. (Ann. d'Igiene 1922).

Deggeller[10], die de waarde van creoline als antisepticum wilde nagaan op konijnen, die vibrionen uitscheidden, paste om vibrionendragers te verkrijgen achtereenvolgens verschillende methoden toe. Met al deze — het toedienen per maagsonde na vooraf 5 % sodaoplossing gegeven te hebben, of wel de cholerasuspensie alleen, het bestrijken van voedsel met een 24 uur oude cultuur of het afstrijken achter op de tong — bereikte hij zijn doel; tevens bewees hij daarmede, dat de dieren ondanks geweldige hoeveelheden vibrionen niet ziek worden en als regel geen agglutininen noch bacteriolysinen vertoonen.

Volgt uit vorenstaande proeven ongedwongen, dat het normale darmbekleedsel in staat is, althans bij de gebruikte proefdieren, het indringen van de ziekteverwekkende kiemen of haar producten te beletten, er zijn reeksen waarnemingen, die bewijzen, dat het beschadigde epitheel ze wel doorlaat.

Allereerst moeten wij in dit verband noemen de infectie, waarbij de darmverlamming indirect oorzaak van de desquamatie is (proeven van Koch); verder de waarnemingen, dat een gewone enteritis door indigestie en de septichaemieën met verandering in het darmkanaal, zooals de colibacillose dat veroorzaakt, (proeven van Sanarelli[11]) de cholera-infectie begunstigen kunnen.

Pottevin en Violle[12] bereikten in 1913 hetzelfde door purgativen evenals Cantacuzène en Marie[13].

Het gold hier den invloed van vasten en lichte gastro-intestinale bezwaren na te gaan op een experimenteele cholera-infectie. Na 24 uur vasten werd de maaginhoud door soda gealcaliniseerd, waarna 10—20 mgr. podophylline in water en wat choleracultuur per sonde gegeven werden. Gaf choleracultuur alleen geen symptomen, podophylline alleen gaf een diarrhee, die steeds voorbijgaand was. Werd het te zamen gegeven, dan trad vaak een doodelijke infectie op, en wel in 83 %, waar vasten voorafgegaan was en in 30 %, waar dit niet geschiedde.

Doch ook zonder podophylline stierven na toediening van vibrionen op nuchtere maag 12 % van de dieren; op gevulde maag gegeven, geen een. Belangwekkend is, dat ook enkele dieren, door podophylline ontvankelijk gemaakt, door contact met de besmette dieren stierven aan een specifieke enteritis.

NASTA[14] zag hetzelfde na subcutane injectie van enterolytisch serum, verkregen na vóórbehandeling van een konijn met darmslijmvlies van een cavia, VIOLLE[15] na onderdrukking van de galsecretie door onderbinding van den ductus choledochus en inspuiting van de cultuur in den darm onder de inmondingsplaats van ductus pancreaticus.

In ditzelfde verband behooren de proeven van Besredka, over het „sensibiliseeren'' van den darmwand door middel van ossengal, waarover later meer.

III. 1. INFECTIE MET BAC. PARATYPHI B. EN VACCINATIE LANGS GASTRO-INTESTINALEN WEG.

In tegenstelling met de vibrio cholerae komen de paratyphus B. bacil en verwanten veelvuldig bij dieren voor. In het „Handbuch der pathogenen Mikroorganismen"[16] vinden we op blz. 1071 een lijst van dieren, in welker darm de paratyphus B. bacillen een saprophytisch leven leiden. Veranderde levensomstandigheden kunnen echter oorzaak worden, dat het onschuldige commensale organisme tot parasiet wordt.

Loeffler[17] trachtte veldmuizen langs enterogenen weg te vaccineeren door middel van Bac.typhi murium, verhit op 70°.

In een tijdsverloop van 29 dagen kregen 8 muizen 17 maal een suspensie te verorberen. 4 stierven reeds gedurende de vaccinatie, 1 werd opgeofferd, de overige 3 kregen, 18 dagen na den laatsten maaltijd, de doodelijke dosis. Van deze stierf er een, terwijl slechts 2 in leven bleven; doch met dit pover resultaat niet tevreden, beproefde hij beide een tweede maal, waarbij ze te gronde gingen.

Ook de vaccinatieproeven op veldratten, door subcutane injectie, vertoonden negatieve resultaten.

Uit de enkele gunstig geslaagde proeven betreffende orale vaccinatie, het totaal mislukken van immuniseering door intraperitoneale of onderhuidsche inspuitingen en het ontbreken van agglutininen in het serum, leidde Loeffler af, dat een weefsel- of orgaan-immuniteit noodig is, om de dieren voor een natuurlijke besmetting te vrijwaren, en dat die alleen door toediening van het verzwakte of gedoode virus per os te verkrijgen is.

Wolf[18] voederde witte muizen 5 verschillende paratyphus B. stammen, die avirulent voor die diersoort waren, en zag daarna een langdurende immuniteit ontstaan tegen virulente muize-

typhus-bacillen, per os gegeven. Hij vond, dat de graad van immuniteit van den duur der vóórbehandeling afhankelijk is. In het bloed van de op verschillende wijze gevaccineerde dieren kon hij geen agglutininen, doch wel bacteriolysinen, volgens de methode van Pfeiffer, aantoonen, waardoor voor hem het bestaan van een orgaan-immuniteit vervalt.

Evenals Loeffler vond hij, dat subcutaan gevaccineerde muizen slechts bestand zijn tegen een onderhuids toegebrachte infectie, niet tegen die, welke langs het maagdarmkanaal het lichaam binnenkomt.

Kutscher en Meinicke[19] gaven aan caviae met het voedsel 1 × levende paratyphus B.- of muizetyphus-bacillen in groote hoeveelheid en zagen na 4 weken, dat de dieren beschermd waren tegen een 1000—10.000-voudige doodelijke dosis intraperitoneaal. Met gedoode paratyphus B. bacillen gelukte hun dat niet. Anderen bereikten daarmee wel hun doel, zoo b.v. Shiga[20].

Deze voederde caviae met een gedoode paratyphuscultuur, en spoot na 10—14 dagen levende bacillen direct in den dunnen darm. Gingen de contrôledieren daaraan als regel te gronde, de gevaccineerde doorstonden meestal de infectie.

In 1909 vaccineerde Eijiro Yoshida[21] langs oralen weg witte muizen en veldratten en bereikte in een veertiental proeven het volgende: Het gelukt niet, witte muizen tegen muizetyphus te immuniseeren door middel van typhus- of paratyphus A. bacillen, wel door paratyphus B.- of muizetyphus-bacillen.

Subcutane vóórbehandeling daarmede beschut de dieren niet tegen orale infectie. Vaccinatie door gedooden muizetyphus is voor de dieren niet onschadelijk: een niet onbelangrijk gedeelte sterft tijdens het immuniseeringsproces. Gedoode paratyphus B. bacillen zijn voor het dier ongevaarlijk. De duur van de vóórbehandeling is van grooten invloed op den graad van immuniteit.

In het bloedserum van witte muizen, die 18 dagen lang met gedoode paratyphus B.- resp. muizetyphus-bacillen behandeld waren, konden geen agglutininen, doch wel bacteriolysinen

aangetoond worden. Dit, en het feit dat de gevaccineerde dieren licht ziek werden na de infectie, brengen Yoshida tot de overtuiging, dat hier geen orgaan-immuniteit, doch een algemeene immuniteit in het spel is.

Aan Brückner[22] gelukte het, witte muizen langs oralen weg te vaccineeren, en wel met een cultuur, die, subcutaan ingespoten, de dieren doodde, doch, per os genomen, onschadelijk was.

Door middel van brood, dat in paratyphus B. cultuur was gedrenkt, voedde hij gedurende 9 achtereenvolgende dagen 16 muizen, tijdens welk proces er slechts één aan paratyphusinfectie stierf, terwijl een ander met aangevreten kop gevonden werd.

Te zamen met 6 contrôledieren werden de vóórbehandelde muizen subcutaan ingespoten met een doodelijke dosis levend virus. Het resultaat was ontwijfelbaar: 13 van de gevaccineerden bleken resistent, terwijl de 14de tegelijk met de contrôledieren stierf, waarbij paratyphus B.bacillen uit het hartebloed konden worden gekweekt. Hier zien we dus een tegengesteld resultaat met dat van Loeffler.

Lumière en Chevrotier[23], die ondanks de vele teleurstellingen en mislukkingen van hun voorgangers overtuigd waren van de voordeelen en de mogelijkheid van vaccinatie langs digestieven weg, bereidden een „entéro-vaccin", waarmee het hun gelukte proefdieren te immuniseeren. Bij de bespreking van den typhus komen we daarop terug.

Danysz en Skrzynski[24] beleefden bij hun proeven op ratten slechte of twijfelachtige resultaten, waaruit zij afleidden, dat de kleine knaagdieren zich nòch per os, nòch langs andere wegen tegen een virulenten stam laten vaccineeren.

Wat betreft de paratyphus B.infectie, kon Rubinstein[25] in 1917 aantoonen, dat, hoewel volwassen muizen tegen voedering daarmede volkomen bestand waren, onder jonge dieren een gegeneraliseerde infectie optrad, waartegen nòch actieve, nòch passieve immuniseering hielp.

Ter gelegenheid van het jubileum van E. Metchnikoff publi-

ceerden Besredka en Bassèches[26] een studie over het gesensibiliseerde virus van paratyphus B., waarvoor de proeven reeds in Mei 1914 waren verricht.

Zij trachtten door middel van de methode, in 1902 door Besredka uitgedacht, op witte muizen te experimenteeren met een virus, dat tot nu toe aan een nadere studie van het sensibiliseeringsproces was ontsnapt.

Daarbij werd als het ware toevallig een feit ontdekt, dat voor het verder onderzoek van het grootste belang werd.

Om de studie over vaccinatie van muizen door middel van paratyphus B., levend dan wel gedood, gesensibiliseerd of niet, volledig te maken, werd naast den weg van subcutane injectie ook de voedering per os geprobeerd. Doch, wat ook beproefd werd, de muizen waren langs oralen weg niet te infecteeren, al werd ook met een zeer sterk virulenten stam gewerkt. (Dit zelfde was een jaar te voren ook door Rubinstein gevonden).

Echter, op zekeren dag (zie p. 200), toen Besredka een muis als contrôle noodig had en er geen ongebruikte exemplaren aanwezig waren, nam hij een dier, dat een maand geleden paratyphus-bacillen per os had gekregen, zonder daarvan ziek te worden.

Hoe groot was zijn verbazing, den volgenden morgen de muis levend en wel in haar kooi te zien, ondanks het feit, dat haar den dag te voren onderhuids een doodelijke dosis virus was toegediend.

Deze toevallige vondst, bevestigd door gevarieerde proeven op honderden muizen, bewees, dat een dier te immuniseeren is tegen een zekere doodelijke dosis en wel langs een weg, die absoluut onschadelijk blijkt.

In punt 5 van de conclusies (p. 200) zeggen zij, dat de immuniteit eerst laat ontstaat, niet eerder dan den tienden dag na de ingestie van het virus. Hoe volkomen ook na toediening van levende microben, de immuniteit is zwak en kortdurend na het innemen van gedoode bacillen.

In Juli 1918 deelt Besredka[27] in de Académie des Sciences mede, dat hij het middel heeft gevonden, om konijnen, die bij orale infectie absoluut refractair tegen de ziekte blijken, zóó

gevoelig te maken, te sensibiliseeren, zooals hij dat noemt, dat ze bij toediening van een bepaalde dosis sterven. Dit middel bestaat uit rundergal, dat per os wordt gegeven alvorens het virus in te brengen.

De werking van de gal, waarop we later terugkomen, bestaat daarin, dat ze als cholagogum de galsecretie van het dier aanzet en te zamen daarmee een sterke desquamatie van het darmepithelium bewerkstelligt, waardoor het aanvankelijk ongevoelige dier zijn weerstandsvermogen verliest en het virus door den darmwand heen kan dringen.

Van eminent belang is de vondst, dat na toediening van gal en gedood paratyphus B.virus het dier bestand blijkt tegen een doodelijke dosis, intraveneus ingespoten.

In de Annales de l'Inst. Pasteur van 1919[28] vinden we dan over de infectie met paratyphus B. en de werking van de gal nadere bijzonderheden.

De groote beteekenis van Besredka op dit gebied ligt dus niet in het feit, dat hij de vaccinatie per os heeft ingevoerd, zooals men het wel wil doen voorkomen, maar daarin, dat hij een eenvoudig middel aan de hand deed, om oogenschijnlijk ongevoelige laboratoriumdieren gevoelig te maken, en, gesteund daardoor, een reeks proefnemingen verrichtte, die een helder inzicht geven in het mechanisme van de infectie der darmziekten, de vaccinatie daartegen, het wezen van de aldus verkregen immuniteit, die hij zich locaal, dat wil zeggen aan den darmwand gebonden denkt, en daardoor een krachtigen stoot gaf aan het zoo rationeele immuniseeringsproces per os tegen darmziekten, zooals dat reeds door Lumière en Chevrotier was begonnen; voorwaar geen geringe verdiensten!

Tot geheel afwijkende resultaten komen in 1920 de Amerikaansche onderzoekers Zingher en Soletsky[29]. Wel is waar bevestigen zij de vondst, dat konijnen na vóórbehandeling met gal veel gevoeliger zijn tegen een intraveneus gegeven dosis paratyphus B.bacillen, doch nòch met levende, nòch met gedoode bacillen verkregen zij, na voorafgegane „sensibilisatie" door gal, immuniteit.

Voorts konden zij bij de konijnen, hoe ook geïnfecteerd, géén agglutininen aantoonen.

Nog een anderen tegenhanger van de positieve resultaten, die Besredka bereikte, vormen de proeven van Enlows[30], waarbij zij muizen trachtte te vaccineeren tegen Bac. typhi murium. Gezien de wisselvallige uitkomsten van de voorafgegane proeven, verwondert ons ook haar lage percentage geimmuniseerden niet.

In een proefneming op ruim 300 muizen, die zij een wisselend aantal malen gedood muizetyphus-virus liet eten, al of niet vergezeld van gal, waarop de dieren tusschen de 7 en 20 dagen na de laatste gift een doodelijke dosis levend virus per os of intraperitoneaal kregen, bleek een aantal, varieerend tusschen 0 en 37 %, daartegen bestand.

De inrichting van de proeven is echter zóó willekeurig, dat gunstige of ongunstige factoren daarin niet na te speuren zijn.

Gelukkig concludeert ze dan ook zelf:

> „It would appear, however, in view of the low percentage protection obtained, that either the method itself is at fault or the correct amount of vaccin or bile was not chosen."

Neri[91] vermeldt, dat, na sensibiliseering van konijnen door middel van gal of olijfolie, met paratyphus B.bacillen een gastroenteritis is te verwekken. Bij met levende paratyphus B.bac. per os behandelde dieren ontstaan specifieke antistoffen: de dieren blijken na een doodelijke dosis echter niet immuun. In het organisme van intraveneus vóórbehandelde dieren verdwijnen de per os gegeven levende bacillen snel.

Vergelijkt men de resultaten, dan zijn deze niet onverdeeld gunstig. De meeste onderzoekers zijn het erover eens, dat men per os groote hoeveelheden moet toedienen en deze behandeling lang moet voortzetten. Over het algemeen is de aangewende dosis zóó groot, dat tijdens het immuniseeringsproces verschillende dieren te gronde gaan (Loeffler), vooral de jongere (Rubinstein).

Met verschillende stammen bleek het zelfs onmogelijk te vaccineeren. De menigvuldige tegenstrijdigheden, o. a. tusschen Loeffler en Brückner, de slechte resultaten van Loeffler, Danysz

en Skrzinsky, Metchnikoff en Besredka, Rubinstein eenerzijds, de gunstige van Wolf, Kutscher en Meinicke, Shiga, Yoshida, Brückner, Lumière en Chevrotier anderzijds, zullen wel door de wijze van voorbehandeling en de antigene eigenschappen van den gebruikten stam verklaard moeten worden.

Ook de latere onderzoekers komen tot strijdige uitkomsten, zoo Besredka, die de mogelijkheid van vaccineeren per os in proeven op muizen en konijnen bewees, en wiens conclusies absoluut tegengesproken worden door Zingher en Soletsky en nagenoeg geheel door Enlows.

In ieder geval kunnen we er dit uit afleiden: het beginsel, dat vaccinatie langs enterogenen weg mogelijk is, bewijzen ze volkomen. De vele negatieve resultaten manen tot voorzichtigheid en leeren ons, dat hier tal van factoren in het spel zijn, die het mechanisme van de immuniteit vooralsnog in het duister hullen.

---

2. INFECTIE MET BAC. DYSENTERIAE EN VACCINATIE LANGS ORALEN WEG.

Evenals de paratyphus treedt ook de bacillaire dysenterie nu en dan spontaan onder proefdieren als apen en honden op, en JOETTEN[31] geeft op blz. 200 in een artikel over infectieproeven met dysenterie en typhus bij honden daarvan literatuuropgave.

Opmerkelijk is, dat MESSERSCHMIDT[32] onder 40 normale konijnen er 2 vond met bacteriën in de faeces, die niet te onderscheiden waren van dysenterie type Y.

Ook DAKE[33] vond in den normalen darm van kippen, konijnen, ratten en van den mensch bacillen, welke naar morphologische en cultureele kenmerken niet te onderscheiden zijn van de dysenteriebacillen.

Infectieproeven met dysenterie langs oralen weg zijn reeds door SHIGA[34] in 1895 genomen en ook FLEXNER[35] hield zich daarmee bezig.

Het gelukte den dieren een enteritis te bezorgen, met slijmerige, diarrhoeïsche ontlasting, waaruit dysenteriebacillen gekweekt konden worden; deze ziekte had meestal in enkele dagen een doodelijken afloop.

Bij katten gelukte het pas na toediening van wat oleum crotonis, waarna de schijnbaar ongevoelige dieren gevoelig werden voor de infectie langs digestieven weg.

In 1905 namen Gabritschewski en Zeitlin[36] proeven, waarbij aan konijnen per sonde een door verhitting op 60° gedoode typhus-bouilloncultuur gegeven werd, waarna de agglutininen aanzienlijk vermeerderden.

Zeitlin zelf nam in een tijdsverloop van 4 weken 6 maal van 0,2—10 mgr. gedoode dysenteriecultuur in, waarvan hij geen bezwaren ondervond. Zijn serum agglutineerde daarna in de verdunning 1/60; ook de bacteriolysinen waren niet belangrijk toegenomen.

Na hen werd deze wijze van besmetting herhaaldelijk toegepast. In dit verband interesseeren ons de proeven van Hida en Toyoda[37], die trachtten caviae per os te immuniseeren door middel van een op 60° gedoode cultuur, echter met negatieve uitkomsten.

Meer succes hadden zij met hun capsules, die cholera-, typhus- of dysenteriecultuur bevatten, door inwerking van pepsine of trypsine verteerd, en door een Chamberlandkaars gefiltreerd.

Werden deze aan caviae gegeven, dan konden na 8—14 dagen duidelijk agglutininen en bacteriolysinen in het serum aangetoond worden.

Aan Chvostek[38] gelukte het, konijnen per os tegen Shiga-Kruse dysenterie te immuniseeren, door ze met tusschenpoozen van 8 dagen gedoode cultuur te voeren. Ook met levende, virulente stammen gelukte dit, doch de resultaten waren niet zoo mooi als na subcutane of intraveneuze vóórbehandeling.

Tevens merkte Chvostek daarbij op, dat verschillende konijnen, ondanks herhaalde ingesties, langs dezen weg niet te immuniseeren waren.

Sommige hadden een belangrijke hoeveelheid bacteriolysinen en antitoxinen in het serum; in geen enkel geval waren agglutininen aan te toonen.

Shiga[39] voederde konijnen met gedoode dysenteriebacillen, waardoor hij ze tegen darmverschijnselen na intraveneuze

inspuiting van dysenterie-toxine kon beschermen. Na 3—7 dagen stierven de dieren echter onder spinale verschijnselen, als verlammingen van de extremiteiten, blaas- en hartverlammingen, dyspnoe. De contrôledieren stierven na 1—2 dagen onder het beeld van diarrhee, oedeem en bloedingen in het darmslijmvlies.

Shiga spreekt hier reeds over locale of histogene immuniteit, een begrip, dat later door Besredka verder is uitgewerkt. Ook in de praktijk zou de orale vaccinatie tegen dysenterie, vooral in krankzinnigengestichten in Japan, waar ze jaarlijks heerschte, met goed gevolg zijn aangewend.

In 1908 maakte Dopter[39] bekend, dat het hem gelukt was muizen langs digestieven weg te immuniseeren tegen dysenterie. 5 mgr. gedroogde en verhitte cultuur, in wat melk gesuspendeerd, werd aan muizen van ± 20 gram gedurende twee à drie dagen te drinken gegeven. Ent men ze 12—15 dagen daarna met een doodelijke dosis onderhuids, dan blijven ze in leven, terwijl de normale muizen in 3 à 4 dagen sterven, ja, er waren er onder, die een tweevoudige doodelijke dosis verdroegen.

Bovenstaande voorwaarden moesten echter wel alle vervuld worden, want de dieren bleken niet bestand, wanneer ze met kleinere doses of b.v. eenmaal gevaccineerd werden.

Ook bleek, dat het immuniseeringsproces nagenoeg 10 dagen noodig had om zich te voltrekken en dat muizen, vóór dien tijd op de proef gesteld, gevoeliger waren dan de normale contrôledieren.

Ook met levende cultuur verkreeg hij dezelfde uitkomsten.

Dopter maakte de opmerking, dat, hoe belangwekkend dit alles ook moge zijn uit een algemeen gezichtspunt, voor de praktijk hiervan niet veel te verwachten is. Niet alleen dat men er moeilijk toe te bewegen zou zijn, doch „en admettant que les réactions de l'organisme humain soient comparables à celles de la souris, il faudrait lui faire avaler des doses colossales de microbes, puisqu'il faut 5 mgr. pendant 2 ou 3 jours pour vacciner 20 gr. de souris; soit, pour l'homme de 60 kilogrammes, 15 grammes de bacilles dysentériques par jour!"

Hoe rekenkundig juist dit ook moge wezen, de proeven van Nicolle en Conseil zouden leeren, hoe gevaarlijk het is analogieën te maken, en bewijzen, dat de menschelijke darm ook minder voor lief neemt.

Joetten[31] toonde aan, dat honden, die met het voedsel Shiga-Kruse bacillen innemen, zelfs na een enkele maal reeds „drager" zijn, zonder daarvan ziek te worden. Ook bij caviae, konijnen en kippen gelukte dat, doch voor korten tijd. Alleen ratten zijn gevoeliger, en deze vertoonden na de ingestie ziektesymptomen, ja, een ervan stierf aan een acute enteritis.

Werden de honden langer met bacillen gevoed, dan kon hij in het serum specifieke antistoffen aantoonen, die zich echter langzaam ontwikkelden en na korten tijd weer verdwenen. Een positief bewijs voor de immuniteit bracht Joetten niet bij.

Aangemoedigd door de successen van vorige proefnemingen en ervan overtuigd, dat de gastro-intestinale methode van vaccineeren minder bezwaren geeft en bovendien rationeeler en doelmatiger is dan de thans gebruikelijke wijze van prophylaxis, verrichtte Besredka infectieproeven op konijnen met de dysenteriebacil door orale toediening.

In Augustus 1918 deelde hij mede[41], dat het hem gelukt was, bij konijnen op deze wijze met gedoode dysenteriecultuur dezelfde klinische en pathologisch-anatomische verschijnselen te krijgen, als bij voedering met levend dysenterievirus ontstaan. Koos hij zijn doses zóó, dat na een maaltijd van gedoode bacillen een lichte dysenterie-aanval ontstond, dan bleek het dier refractair tegenover een dosis levende en virulente dysenteriebacillen, die, intraveneus gegeven, een contrôledier doodt in 24 uur.

In de Annales de l'Institut Pasteur van Mei 1919[42] vinden we een nadere studie betreffende het mechanisme van infectie met en vaccinatie tegen dysenterie langs digestieven weg, waarin tevens Besredka's gedachten over het wezen van de immuniteit zijn neergelegd.

Was voor de infectie met paratyphus B. noodig den proefdieren groote hoeveelheden virus toe te dienen of ze te sensi-

biliseeren door middel van gal, bij de dysenterie komt men zonder hulpmiddelen en met veel kleiner hoeveelheden uit. Gaf hij aan konijnen een geringe dosis zóo, dat geen symptomen ontstonden, dan bleken na opoffering van het dier in den darm wel degelijk laesies aanwezig te zijn, die, al naar gelang van het tijdstip, waarop het dier gedood werd, ook wel in het genezingsstadium werden aangetroffen.

Gal zou als hulpmiddel bij de infectie daarom niet noodig zijn, omdat uit de te gronde gaande dysenteriebacillen een krachtig endotoxine vrij komt, dat desquameerend werkt en dat daardoor bressen maakt in de natuurlijke barrière, die de normale darmwand biedt.

Wat betreft de eigenschappen van het bloedserum, na een enkele toediening van gedood virus steeg de agglutinatorische titer, die aanvankelijk ± 1/25 bedroeg, tot 1/200, welke waarde na 18 dagen bereikt werd, om na een maand weer tot de norm te zijn teruggekeerd.

Preventieve werking bezat 't serum niet, wat bleek uit proeven op muizen. Doch, ondanks het ontbreken van agglutininen en van beschermende stoffen in het serum, waren konijnen en muizen, 1 resp. 2 maal met gedoode Shiga-bacillen vóórbehandeld, resistent tegenover een dosis levend virus, die een contrôledier in 24 uur doet sterven.

Op grond van deze gegevens komt Besredka dan tot de conclusie, dat die immuniteit aan den darmwand gebonden, dus locaal is.

In een Revue van het Bulletin de l'Inst. Pasteur overziet Besredka[43] bovenstaande verschijnselen nog eens en stelt tegenover de „entéro-infection" de „entéro-immunité".

Tot minder gunstige resultaten kwam in 1921 Kanai[44], die de uitkomsten van orale en subcutane methode van immuniseeren tegenover dysenterie-Shiga bij konijnen onderling trachtte te vergelijken.

Door hitte gedoode Shiga-bacillen, in zoutsolutie gesuspendeerd, werden met zemelen vermengd en aan vastende konijnen gevoerd. Zelfs het innemen van enorme hoeveelheden had geen

invloed op den algemeenen gezondheidstoestand van het dier, doch wel verschenen er agglutininen in het bloed.

Tegenover een intraveneus gegeven dosis levende en virulente Shiga-bacillen bleken slechts enkele dieren bestand.

Het vooraf toedienen van gal had daarop geen invloed, en ook het per sonde inbrengen van de vaccineerende doses gaf geen betere resultaten.

De subcutane methode bleek het van de orale te winnen.

Ook in zijn verdere experimenteele studies over den dysenteriebacil type Shiga en zijn toxinen, laat KANAI[45] zich niet te gunstig uit omtrent de orale vaccinatie, waarvan hij het nut nog onbewezen acht. Weliswaar geeft deze methode minder stoornissen dan de vaak heftige reacties na subcutane inoculatie, doch de resultaten zijn minder zeker.

Proeven om langs subcutanen of oralen weg met gedood vaccin de dieren te immuniseeren tegen een hoogwaardig oplosbaar toxine mislukten.

In afwijking van Besredka, die de agglutininen na een tweede ingestie verdwenen vond, zegt Kanai, dat de titer van de antistoffen na herhaalde toediening belangrijk toegenomen is.

Echter, hoe groot ook de analogie tusschen de experimenteele konijnenziekte en de infectie van den mensch is, de resultaten van de een mag men niet op de ander overdragen.

Proeven op menschen zouden dus de deugdelijkheid van de nieuwe methode moeten bewijzen. Men koos daartoe den dysenteriebacil. Immers, daartegen bestaat een curatief werkend serum, dat, aangewend wanneer symptomen van infectie zich openbaren, een gevaarlijk verloop van de ziekte stuiten kan.

NICOLLE en CONSEIL[46] berichtten in Maart 1922 in de Académie des Sciences de resultaten van deze proeven.

Gedurende drie achtereenvolgende dagen kregen twee personen op 75° gesteriliseerde Shiga-dysenteriecultuur op nuchtere maag, waarbij hun telkenmale 100 milliard bacillen werden toegediend. Den 5den dag namen ze opnieuw diezelfde dosis.

Veertien dagen daarna kregen zij, te zamen met twee vrijwilligers, een dosis van 10 milliard levende en virulente bacillen.

Terwijl de gevaccineerden geen enkele ziekteverschijnsel ver-

toonden, werden beide andere personen ziek, waarbij dysenteriebacillen in de ontlasting gevonden werden. Injecties van antidysenterieserum genazen beiden snel.

In Augustus 1922 publiceerden NICOLLE en CONSEIL[47] een uitgebreide studie over preventieve vaccinatie bij den mensch tegen bacillaire dysenterie en Maltakoorts, twee ver van elkaar staande ziekten, die echter de porte d'entrée gemeen hebben.

Wat betreft de bacillaire dysenterie, hierbij ondervonden zij reeds dadelijk groote moeilijkheden om de personen, waarop zij hun proeven verrichtten, de inboorlingen van Tunis, te besmetten.

Te zamen genomen, trachtten zij 12 inboorlingen te infecteeren:

4	per os, zonder gal:	resultaat	4	negatief.
2	,, ,, na toediening v. gal:	,,	2	,,
3	rectaal:	,,	1	,, 2 positief.
1	rectaal en tevens oraal:	,,		1 twijfelachtig.
2	a.b. na toediening v. gal of crotonolie:	,,	2	,,

Van 12 personen, langs verschillende wegen besmet, is dus het resultaat 9 × negatief, 2 × positief en 1 × twijfelachtig, welke laatste nog ten gunste van den rectalen weg pleiten.

Ze leiden daaruit af, dat het grootste deel van de bevolking natuurlijk immuun tegen deze ziekte is, als gevolg van het herhaald drinken van besmet water, waardoor een ,,vaccinatie langs digestieven weg'' verkregen zou worden.

Bewijzend zijn de immuniseeringsproeven dus niet.

1e *reeks*: 3 personen krijgen allen achtereenvolgens 1, 2 en 4 tabletjes gedood dysenterievaccin, elk 50 mgr. gedroogde cultuur bevattend; 14 dagen na de laatste vaccineerende dosis worden rectaal 40 milliard levende dysenteriebacillen ingebracht.
Ze vertoonen absoluut geen bezwaren en geen agglutininen, dôch, ook de normale contrôlepersoon blijft gezond.

2e *reeks*: als boven, doch nu als proefdosis 75 milliard buccaal en 150 milliard rectaal. Ook hier geen bezwaren en geen

agglutininen. De contrôle werd 8 dagen naderhand wat ziek, waarbij hij gedurende 2 dagen diarrhoeïsche ontlasting en tenesmi had, geen slijm. Bacteriologisch faecesonderzoek had niet plaats, zoodat deze proef ook wel hoogst twijfelachtig uitvalt.

3e *reeks*: als boven, doch als proefdosis, na toediening van gal 100 milliard bacillen per os en 400 milliard rectaal. „Gevaccineerden", zoowel als contrôle bleven allen gezond.

4e *reeks*: 1 persoon kreeg na innemen van gal 13 milliard levende dysenteriebacillen per os, waarvan hij geen bezwaren ondervond. Na 1 maand werden rectaal 40 milliard bacillen ingebracht, waarna hij ook geen symptomen gaf. Een contrôlepersoon is in die reeks niet opgenomen.

De eenige gevolgtrekking, die de auteurs hieruit maken, is, dat bij 9 „gevaccineerden" zich geen enkel geval van dysenterie voordeed, terwijl het infectiecijfer in hun proeven toch 3 op 12 is. Bewijzend voor het nut van de vaccinatie is dit natuurlijk niet en om hieruit tevens te besluiten tot het nut van deze methode voor de andere darmziekten, waarmee men niet kan experimenteeren, is m. i. nog niet geoorloofd.

In tegenstelling met Besredka vond Robertson[48], die ter wille van de subcutane vaccinatie een methode beproefde om de toxische werking van den Shiga-bacil te ontgaan, dat orale toediening van levende Shiga-bacillen bij konijnen geen dysenterische symptomen verwekt, noch eenige serologische reactie.

Proeven van Dumas en Combiesco[49] bewezen, dat konijnen zich laten immuniseeren tegen dysenterie door middel van een filtraat, dat slechts het toxine van een 8 dagen oude Shiga-cultuur bevat. De helft van de gesondeerde dieren stierf aan een ziekte, waarbij de ledematen verlamd werden en de darm typische laesies te zien gaf, de andere helft bleek later bestand tegen een 4-voudige doodelijke dosis, intraveneus ingespoten.

Na een andere proefreeks (Combiesco, Maghern en Calalb[50])

concludeerden zij, dat konijnen langs „la voie digestive'' weliswaar te immuniseeren zijn, doch dat de resultaten inconstant zijn, afhankelijk van individueele verschillen. In het serum vonden zij geen agglutininen of praecipitinen, doch wel antitoxinen, wat bewijst, dat het dysenterie-toxine door den darmwand heengedrongen is.

Over het algemeen zien we bij de dysenterie gunstiger resultaten dan bij den paratyphus. Men zou kunnen trachten dit te verklaren door aan te nemen, dat het krachtige endotoxine door den darmwand goed geresorbeerd wordt, waarvan — hetzij door locale, hetzij door algemeene processen-immuniteit het gevolg is. Immers, aan Dumas en Combiesco gelukte het, door middel van toxinen alleen te vaccineeren. Ook de uitkomsten van Besredka wijzen daarop. Was het voor de infectie en vaccinatie tegen paratyphus en typhus noodig om de konijnen, die tegen hooge doses van dat virus refractair waren, door middel van gal te sensibiliseeren, bij dysenterie bleek dit niet noodig, wat Besredka verklaart door aan te nemen, dat zoowel gal als het endotoxine van de dysenteriebacillen op het darmepithelium desquameerend werken, waarna het vaccin gemakkelijker geresorbeerd zou worden.

Ook deze proeven bewijzen, dat de vaccinatie per os in beginsel mogelijk is, al blijven ook hier nog duistere punten bestaan. Waarom b.v. Shiga, Dopter en Besredka gunstige uitkomsten hadden, terwijl Kanai en ook Robertson faalden, is niet duidelijk. Er schijnt aan bepaalde voorwaarden — die grootendeels onbekend zijn — voldaan te moeten worden, zooals ook Dopter opmerkte; en ook Chvostek constateerde, dat bepaalde dieren zich langs dien weg niet laten immuniseeren.

De door Shiga beschreven gunstige resultaten, bij den mensch verkregen, en de proeven van Nicolle en Conseil wijzen op het practisch nut, dat deze methode in de toekomst zou kunnen hebben.

---

3. INFECTIE MET BAC. TYPHI EN VACCINATIE LANGS ORALEN WEG.

De eerste proeven om met typhusbacillen de natuurlijke

infectie na te bootsen dateeren sinds 1884, toen GAFFKY[51] muizen, ratten, caviae, konijnen en honden levende bacillen met het voedsel ingaf. Had hij daarmee weinig succes, anderen o. a. REMLINGER[52] gelukte het konijnen en ratten een doodelijke enteritis te bezorgen; in het bloedserum van deze dieren toonde hij agglutininen aan. CHANTEMESSE[53] bevestigde in hetzelfde jaar, 1897, zijn resultaten in proeven op apen en konijnen.

Ook aan WIENER[54], MILLS[55] en SEITZ[56] gelukte de infectie bij ratten, resp. caviae.

TCHITCHKINE[57] behandelde in 1904 konijnen, aanvankelijk per sonde, en later door ze het virus in den mond te brengen, dagelijks, gedurende zeer langen tijd, met typhuscultuur. De dieren werden nooit ziek, maar meestal vertoonden zich vanaf den 9den dag agglutininen in het bloed, die tot een bepaalde hoogte stegen, om na het staken van de infectie te dalen. Ook praecipitinen en complementbindende stoffen werden erin aangetoond, echter, het serum bevatte nooit bestanddeelen, die een cavia tegen een doodelijke infectie konden beschutten.

Ook door het inbrengen van gedoode bacillen bereikte hij hetzelfde, doch in mindere mate.

Met de reeds bij de bespreking van de dysenterie vermelde methode van verteerde bacillen, in capsules besloten, bereikten HIDA en TOYODA[37] ook voor typhus, dat na 8—14 dagen in het serum agglutininen en bacteriolysinen waren aan te toonen.

Om bij dieren een ziekte op te wekken, die identiek is met de febris typhoïdea bij den mensch, namen METCHNIKOFF en BESREDKA[58] chimpansé's, die zij een reincultuur van typhusbacillen, door passage in het apenlichaam virulent gemaakt, lieten drinken.

Nadat zij op deze wijze bewezen, dat de chimpansé een vrijwel identiek beeld met den menschen-typhus kan vertoonen, stelden zij proeven in om het nut van vaccinatie na te gaan. Onder deze zijn er enkele, waarbij getracht werd de dieren per os te immuniseeren.

Hun proeven mogen op de mogelijkheid van een vaccinatie

langs oralen weg wijzen, overtuigend zijn ze niet, omdat het dier door het proces van vaccineeren een lichten aanval doorstond, waarvan bekend is, dat hij immuniseerend werkt.

Courmont en Rochaix[59] wisten immuniteit tegen typhus op te wekken door middel van 8 dagen oude cultuur, die zij door verhitting op 53° doodden. Echter, korten tijd na het inbrengen per os vertoonden de meeste dieren een heftige reactie, diarrhee, hyperthermie en andere symptomen, zoodat deze methode vervangen werd door de rectale, waarbij tevens aan het lavement een weinig laudanum toegevoegd werd.

Op deze wijze kregen ze betere uitkomsten, vonden bovendien antistoffen in het bloed en een immuniteit, die tot een half jaar duurde.

In een uitgebreide studie, waarin zij achtereenvolgens den invloed van exotoxinen, endotoxinen, gedoode bacterielichamen en volledige culturen nagingen, bepaalden Lumière en Chevrotier[60] de factoren, die invloed op het vaccinatieproces per os hebben, o. a. virulentie, ouderdom van de cultuur, wijze van dooden, dosis, intervallen, en bereidden naar de toxiciteit van de bacteriën een mengsel, waarmee ze nu hun verdere proeven verrichtten.

Ook in de praktijk vond het werk van Lumière en Chevrotier, de eersten, die een „entéro-vaccin" bereidden en aanwendden, toepassing, en wel tegen typhus-, paratyphus- en coli-infecties.

Polyvalente en virulente stammen, door middel van hitte gedood, werden in een verhouding van 300 millioen typhus-, 180 millioen coli- en 120 millioen paratyphusbacillen vermengd, ingedampt en tot poeder verwreven, zóó, dat 1 mgr. ongeveer 500 millioen kiemen bevat. Met een indifferente massa werd dat tot gekeratineerde pillen verwerkt.

Deze waren volkomen onschadelijk, en, in bepaalde dosis toegediend, bleken ze, tot zelfs na 4 maanden daarmee geïmmuniseerde caviae en konijnen te beschutten tegen een voor normale dieren doodelijke typhus-, paratyphus- en coli-septichaemie.

Nadat zij het vaccin ter beschikking van den „Service de Santé" gesteld hadden, werd er in November 1914 op raad van

Borel van het Institut Pasteur in de practijk gebruik van gemaakt. DUBARRY[61] geeft hiervan een beschrijving.

Onder de krijgsgevangenen van Toulouse brak typhus uit, die ondanks isoleering en hygiënische maatregelen niet tot staan kwam. Daarna werd een deel van hen, in het geheel 282 man, onderhuids geënt met het vaccin van Vincent en van Chantemesse; 373, waaronder vele debielen, kregen het entéro-vaccin van Lumière in den vorm van pillen en wel op militaire wijze. Aangetreden in het gelid, werden aan ieder van hen, 's morgens en 's middags vóór den maaltijd twee pillen toegediend en tevens werd direct hun naam opgeschreven. Bezwaren zag men geen enkele maal optreden; de 3 gevallen, die daarna nog met typhus in het hospitaal kwamen, behoorden tot de subcutaan gevaccineerden.

Na de voorloopige mededeelingen in de Académie des Sciences publiceerde BESREDKA[62] in dat zelfde jaar (1919) proefnemingen over paratyphus B.- en typhusinfecties met behulp van gal en vaccinatieproeven bij konijnen.

Behalve bij de vermelde experimenten op chimpansé's was het hem niet gelukt, in tegenstelling met andere onderzoekers, bij proefdieren een typhusinfectie na te bootsen. Paste hij den kunstgreep toe, dien hij het eerst voor paratyphus aanwendde, namelijk het vooraf toedienen van gal, dan werd het dier ziek en stierf, waarbij het laesies van het darmkanaal vertoonde, die identiek zijn met die van den chimpansé en van het konijn, dat intraveneus met typhusbacillen werd behandeld, zonder te voren door gal gesensibiliseerd te zijn.

In een uiterst belangrijk en interessant artikel, waarop wij bij de bespreking van de locale immuniteit en de rol van de gal terugkomen, vat BESREDKA[63] de in een 9-tal proefreeksen verkregen resultaten samen.

Hoe groot de hoeveelheid levend virus, per os toegediend, ook moge zijn, het konijn was volgens deze methode niet te immuniseeren tegen typhus.

Zag men in de proeven met paratyphus B.-infectie van muizen na een tijdsverloop van minstens 10 dagen immuniteit optreden, het konijn sterft na de doodelijke proefdosis.

Wordt de besmetting per os evenwel voorafgegaan door het inbrengen van gal, dan ontstaat een immuniteit, die te danken is aan de lichte infectie, die er op volgde, zooals men dit ook bij den mensch waarneemt.

Daarop ziet men in het bloed antistoffen, die echter na volgende vaccineerende doses verdwijnen.

Opmerkelijk is, dat na toediening van gal en gedoode bacillen weinig agglutininen optreden, doch het dier immuun blijkt, terwijl een groote hoeveelheid levend virus zonder gal een hooge waarde aan agglutininen doet ontstaan, zonder echter te immuniseeren.

De titer, die bereikt wordt, wanneer een konijn, dat is vóórbehandeld met gal en gedoode cultuur, een groote hoeveelheid levend virus krijgt, is veel en veel lager, dan wanneer een versch konijn of een, dat uitsluitend met gedoode bacillen werd behandeld, die dosis inneemt.

Het verschil moet worden toegeschreven aan het ondoorgankelijk worden van den darmwand na gal en gedoode bacillen, met andere woorden aan het immuniseeringsproces, dat zich daarin voltrekt.

Dit alles wordt door Besredka als bewijs aangevoerd voor de locale immuniteit van den darmwand. Een ander klemmend argument daarvoor is, dat de op deze wijze verkregen immuniteit zich zeer snel openbaart en wel vóórdat antistoffen gevormd zijn.

Hoe aanmoedigend deze resultaten ook mogen zijn, en hoe groot ook de analogieën, voor den mensch hieruit af te leiden, het experiment of uitgebreide en zorgvuldig geboekte waarnemingen tijdens epidemieën zouden dit moeten bevestigen. Het experiment is voor ziekten als typhus en paratyphus te gevaarlijk, omdat daartegen geen specifieke therapie bestaat, zooals we die voor bacillaire dysenterie kennen. Echter, het natuurlijke experiment, de epidemie, is in staat ons hier aanknoopingspunten te verschaffen.

Toen in den zomer van 1921 in de Pas-de-Calais, in de omgeving van Neuvireuil-Frémicourt een typhusepidemie uitbrak, vond de medisch inspecteur van het Departement, Dr. L. Vaillant[64], daarin aanleiding om een gedeelte van de bevol-

king te immuniseeren langs den gebruikelijken weg, door subcutane inspuiting met het vaccin T. A. B. en een ander deel door middel van gedroogde typhusbac., per os gegeven.

In de Revue d'Hygiène en de Annales de l'Institut Pasteur brengt Vaillant daarover verslag uit.

Zijn tabel doet zien, dat

op 600—650 niet-gevaccineerden 50 gevallen, d.i. ± 7,7 %, genoteerd werden;

op 173 gevaccineerden door middel van T.A.B. 4, d.i. 2,3 %;

op 1.236 gevaccineerden door middel van „vaccin bilié" 2, d.i. 0,17 %.

Al is het aantal gevallen nog niet groot en is het uiterst moeilijk om zich een onpartijdig oordeel te vormen, toch stellen bovenstaande cijfers niet teleur en geven aanwijzing, dat langs dien weg in de toekomst nog veel te bereiken is.

In Juli 1923 deelde BESREDKA[65] in de Société de Biologie enkele bijzonderheden mede omtrent een typhusepidemie onder de leerlingen van de militaire opleidingsschool te La Flèche (Sarthe), die door bijzondere omstandigheden de waarde van een experiment heeft gekregen.

Nadat den 8sten April het eerste geval herkend werd, waren er 10 dagen later onder de leerlingen, die met Paaschvacantie naar huis waren en die in het internaat bleven, reeds 43 gevallen, waaronder 2 met doodelijken afloop.

Nu gelastte de Inspecteur van den militairen Gezondheidsdienst, dat alle leerlingen gevaccineerd zouden worden. Alle gezonden, 253 in getal, werden subcutaan met het gebruikelijke T. A. B. vaccin geënt, en de anderen, 268 jonge mannen met eenige organische afwijking of waarvan de algemeene gezondheidstoestand te wenschen overliet, (geen gering aantal voor een militaire school!) kregen op drie achtereenvolgende dagen het vaccin bilié.

De dagen, die op de vaccinatie volgden, gaven nog enkele gevallen te zien, doch blijkbaar waren dit personen, die tijdens den incubatietijd van de ziekte behandeld waren.

Onder de per os gevaccineerden kwamen van den 5en—11en dag nog 5 gevallen voor, en onder de subcutaan geïmmuniseerden

10 gevallen tusschen den 7en en 20sten dag na de inspuiting.

Doodelijke gevallen waren daar niet bij, en tevens verliep de ziekte goedaardiger dan bij de eerst geconstateerde gevallen. Niemand van de per os gevaccineerden ondervond daarvan eenig bezwaar, terwijl deze methode toch juist bij personen met bedenkelijke gezondheid werd toegepast.

Voorzichtigheidshalve trekt Besredka zelve uit bovenstaande slechts de volgende conclusies:

1°. het innemen van vaccin bilié tegen typhus is volmaakt onschadelijk, zelfs voor hen, bij wie een contra-indicatie tegen subcutane vaccinatie bestaat;

2°. de vaccinatie per os, door middel van vaccin bilié, is minstens even doeltreffend als de subcutane enting door middel van T. A. B.

In navolging van Besredka en Vaillant pasten Pirie en Orenstein[66] de orale vaccinatie toe in een mijngebied in Afrika, waar onder de bevolking een typhusepidemie was uitgebroken en waarbij ± 2000 personen op 3 achtereenvolgende dagen een gedoode suspensie van typhusbacillen kregen en 1500 gedurende 2 dagen, in beide gevallen voorafgegaan door een gekeratineerde ossengal-pil van 3 grain. Daarna kwamen nog 20 gevallen van typhus voor:

16 onder de 3500 gevaccineerden, met 5 dooden;

4 onder 100 niet-gevaccineerden, met 3 dooden.

De ziekte openbaarde zich binnen 18 dagen na de toediening van het vaccin, zoodat deze menschen waarschijnlijk al in het incubatiestadium verkeerden.

Onderzoekers erkennen, dat de typhus mogelijk al aan het afnemen was.

In het Geneesk. T. v. Ned.-Indië 1923 breekt Dubinsky[67] een lans voor de typhusvaccinatie per os, waarbij hij herinnert aan de moeilijkheden, die van den kant der bevolking oprijzen bij massa-vaccinatie, vooral bij de 2de en 3de subcutane enting.

In een „Revue critique" bespreekt Calmette[68] achtereenvolgens de verschillende ziekten, waartegen met meer of minder succes de vaccinatie per os is aangewend.

Sceptisch vooral staat hij tegenover de beide proefnemingen in het groot.

't Is moeilijk, zegt hij, uit het experiment in Noord-Frankrijk positieve gevolgtrekkingen te maken, want, daar de galpillen en tabletjes met vaccin in het groot zijn uitgedeeld en er geen bevoegde contrôle bij het innemen was, men ook niet weet, óf ze, en zoo ja, of ze volgens de voorschriften zijn ingenomen. Ondertusschen, deze kritiek houdt geen steek, want onder bevoegde contrôle bij het innemen zouden de resultaten toch eer beter dan slechter kunnen worden.

En ook op „L'expérience de la Flèche" zijn aanmerkingen te maken, daar de vaccinatie begonnen zou zijn, toen de waterepidemie reeds aan het afnemen was. Op dit tijdstip dreigde toch ook het gevaar van het besmette water, dat voor gebruik verboden werd, niet meer, zoodat zij, die niet in het incubatietijdperk verkeerden, ook geen kans meer liepen de ziekte te krijgen.

Onder die omstandigheden zouden alle methoden van vaccinatie wel „doeltreffend" blijken.

Veel bewijzen voor de mogelijkheid van de typhusvaccinatie langs enterogenen weg hebben de dierproeven niet opgeleverd, daar de dieren tegenover hooge doses vrijwel refractair bleken. Slechts bij zeer groote hoeveelheden en vaak onder bijzondere voorwaarden gegeven, gelukte het een reactie te krijgen, hetzij in de vorming van antistoffen, hetzij in die van symptomen.

In dit opzicht werd door Besredka het meeste bereikt. De toepassing in de praktijk, door Dubarry met het vaccin van Lumière en Chevrotier en verder door Vaillant, Besredka, Pirie en Orenstein is zeker niet ongunstig gebleken.

---

4. INFECTIE MET VIBRIO CHOLERAE EN VACCINATIE LANGS ORALEN WEG.

Het is reeds een oude waarneming, tijdens epidemieën gedaan, dat personen door een lichten aanval, zich vaak in nauw opge-

merkte verschijnselen openbarende, immuun worden tegen cholera.

Dit bracht verschillende onderzoekers op de gedachte, of niet, door toediening van verzwakte cultuur per os, menschen tegen infectie met een virulenten stam beschermd konden worden.

In 1892 en 1893 beleefden KLEMPERER[69] en ook SAWTCHENKO en ZABOLOTNY[70] daarvan succes.

Groote hoeveelheden gedoode cultuur, per os genomen, beschermde hen later tegen virulent materiaal.

Hun bloedserum beschutte caviae tegen een doodelijke infectie (K. u. W. III, blz. 115).

In hetzelfde jaar zag METCHNIKOFF[71], dat het innemen van een oude cultuur hem en een ander proefpersoon beschermden tegen de infectie met een jonge choleracultuur.

Het volgend jaar verrichtte hij op menschen een zeven-tal proeven, in dien zin, dat zij enkele druppels van een oude cultuur te drinken kregen na voorafgegane neutralisatie van den maaginhoud door 1 gr. bicarbonas natr. 5—12 dagen daarna kregen ze dan enkele druppels van een jongere cultuur.

De uitslag was zóó, dat Metchnikoff ervan moest getuigen, dat:

> „même des vibrions cholériques, absorbés dans des conditions particulièrement favorables pour leur activité vaccinale, ne protègent pas l'organisme contre l'effet pathogène de ces microbes" (p. 545).

Na in een Revue van het Bulletin de l'Institut Pasteur de verschillende wijzen van vaccinatie tegen cholera aan een bespreking onderworpen te hebben, stelde BESREDKA[72] de vraag, of de buccale weg niet de meest rationeele is.

> „A l'heure actuelle les expériences de laboratoire ne justifient pas encore ce mode de vaccination; mais, l'analogie, en ce qui concerne le mécanisme de l'infection, entre les bacilles du groupe typho-dysentérique et le vibrion cholérique, autorise à entrevoir la même analogie en ce qui concerne le mécanisme de vaccination" (p. 51).

Op Besredka's verzoek verrichtte nu MASAKI[73] de proeven over choleravaccinatie per os, en in Maart 1922 deelde hij in de

Société de Biologie mede, dat konijnen, na te voren met ossengal „gesensibiliseerd" te zijn, antistoffen vormen, — in tegenstelling met die, welke alléén met levende vibrionen werden behandeld — en bestand bleken tegen een doodelijke dosis levende vibrionen, langs den weg van het darmkanaal toegediend.

In de Annales de l'Institut Pasteur van Mei 1922 geeft MASAKI[74] een overzicht van zijn proeven over dit onderwerp en komt tot de volgende conclusies (p. 415).

1°. Les vibrions cholériques, inoculés dans les veines, dans le péritoine ou même sous la peau, se retrouvent en grande partie dans l'appareil intestinal.

2°. Le lapin et le cobaye sont complètement réfractaires à l'ingestion de n'importe quelle dose de vibrions cholériques vivants.

3°. La bile donnée per os modifie la paroi intestinale du lapin, facilite l'accès de l'endotoxine cholérique et le passage de celle-ci à travers l'intestin dans l'économie; de là, apparition d'agglutinine chez les animaux ayant ingéré des vibrions vivants ou tués, après sensibilisation par la bile.

4°. L'ingestion des vibrions vivants ou tués n'engendre pas d'anticorps préventifs, pas plus chez le lapin sensibilisé que chez le lapin normal, non sensibilisé.

5°. Seul le lapin, sensibilisé par la bile, réagit à l'ingestion de vibrions vivants: des doses très élevées de virus (deux cultures sur gélose en boîte de Roux) font périr le lapin en une à deux semaines; des doses moyennes de virus (une culture) rendent l'animal malade pendant quelques jours; enfin, des doses inférieures à une demi-boîte de Roux ne donnent lieu à aucun trouble.

6°. Seul l'animal sensibilisé par la bile, ayant présenté des troubles à la suite de l'ingestion de vibrions vivants, devient vacciné contre l'inoculation d'une dose sûrement mortelle de vibrions vivants dans les veines.

7°. L'immunité ainsi acquise est, selon toute probabilité, de nature locale, intestinale.

Bij de beschrijving van eigen proeven kom ik op verschillende

van deze conclusies nader terug, hier wilde ik in het bijzonder de aandacht vestigen op 2 punten en wel uit hoofde van practische overwegingen.

In punt *c* lezen we, dat ondanks het verschijnen van agglutininen na vaccinatie met gedoode vibrionen de dieren niet immuun blijken, en gaan we dat verder na, dan merken we op, dat na het innemen van gedoode vibrionen bij met gal vóórbehandelde konijnen juist een bijzonder hoog agglutinatorischen titer ontstaat, die niet verdwijnt na een volgende dosis, zooals hij dat na toediening van levende vibrionen zag.

En verder zien we, dat, waar de laatste immuun blijken te zijn na intraveneuze injectie van een doodelijke dosis levend virus de met gedoode cultuur gevaccineerde dieren alle sterven. Al moge dit ook een bewijs voor de ,,locale immuniteit'' zijn, ware deze de beslissende proef voor de methode van vaccineeren, ze zou daarbij ten doode gedoemd zijn. Immers, hoe anders dan door middel van gedood virus zouden wij tegenwoordig willen immuniseeren ?

Maar bovendien verwondert het ons, daar in de analoge proeven van Besredka vaccinatie door middel van gedood virus positief uitvalt.

Doch ook punt 6 geeft te denken.

Uit de proeven op p. 413 blijkt, dat slechts die onder de met levende vibrionen en gal vóórbehandelde dieren tegen de doodelijke dosis bestand bleken, welke in het begin van het vaccineeringsproces ziekteverschijnselen vertoonden.

> ,,Ils avaient, en d'autres termes, subi une légère atteinte de choléra, ce qui leur a permis de triompher ultérieurement de l'épreuve faite par la voie veineuse.''

Dat een lichte aanval immuniseert, is een oude waarneming, en is geen monopolie van een of andere wijze van vaccineeren.

De immuniteit van deze dieren moet dus op rekening van den lichten aanval, niet op die van het immuniseeringsproces gesteld worden.

Besredka had dus wel gelijk, toen hij beweerde, dat de laboratoriumproeven ,,ne justifient pas encore ce mode de vaccination'', wat niet wegneemt, dat men in Zuid-Rusland de methode in het groot op den mensch ging toepassen.

In een artikel van ZABOLOTNY[75], dat uit het Russisch in Tropical Diseas. Bull. gerefereerd werd, vind ik de proeven van Zlatogorov en Savchenko vermeld, die in het serum van personen, per os gevaccineerd, een belangrijke stijging van antistoffen aantoonden.

Op zichzelf experimenteerend, vonden ze na immuniseering per os een sterke vermeerdering van preventiefstoffen in hun serum, en ook met dat van andere gevaccineerden wisten ze caviae te beschutten tegen een doodelijke dosis.

Bovendien maakten ze de waarde van de vaccinatie waarschijnlijk, door daarna levende choleravibrionen in te nemen, waarna zij niet ziek werden, doch slechts korten tijd „drager" bleven.

Zabolotny geeft dan verder een beschouwing over het nut en de practische wijze van toepassing in het groot van de anticholera-vaccinatie per os, welke ervaring hij gedurende de laatste epidemieën in Rusland van 1921—'22 had opgedaan.

Ook de rapporten, uitgebracht aan het Comité d'Hygiène de la Société des Nations te Genève door TARASSEVITSCH[76] in October 1922 en Januari 1923 luiden gunstig.

Uit het laatste bleek o. a., dat géén van het medisch personeel, dat door middel van „Bilivaccin" werd geïmmuniseerd, door de ziekte werd aangetast.

De jongste mededeeling is van GLOTOFF[77], die in het laboratorium van Tarassevitch de proeven van Masaki herhaalde en uitbreidde.

Hier wil ik alleen ingaan op het belangrijkste gedeelte, n.l., dat konijnen na behandeling met gal en gedoode vibrionen immuun bleken tegen cholera-infectie; dit dus in tegenstelling met Masaki en in harmonie met de analoge proeven van Besredka.

Hij nam de proef op 20 konijnen, waarvan er 10 met gedoode choleravibrionen werden behandeld, en 10 met gal en daarna gedoode vibrionen en wel 3 dagen achtereen op nuchtere maag.

In de periode van 5—48 dagen na deze vaccinatie werden de proefdieren intraveneus ingespoten met een doodelijke dosis levend virus.

De resultaten waren als volgt:

de 10 konijnen, die geen gal ontvangen hadden, stierven alle.

Van de overige 10 konijnen bleven er zeven in leven, stierf er een aan een accidenteele oorzaak en succombeerden er twee resp. 2 en 5 dagen later dan die van de eerste groep.

In Rusland heeft onder leiding van Tarassevitch, directeur van het Instituut voor contrôle van vaccins en sera te Moscou, het onderzoek naar de waarde van de orale vaccineeringsmethode plaats, door deze te vergelijken met de subcutane inoculatie.

In een referaat van het VIIde Allrussischer Bakteriologen- und Epidemiologen Kongresz[90] vinden we de namen van verschillende Russische onderzoekers vermeld (Glotowa, Gluchow, Ssokolowa, Goremykina).

IV. EIGENSCHAPPEN VAN DE GEBRUIKTE STAMMEN.

Voor mijn proeven gebruikte ik twee stammen, aangeduid als No. 1624 en No. 120, afkomstig van het Lister Institute te Londen en tijdens de laatste cholera-epidemie in Britsch-Indië geïsoleerd. Beide vertoonen de typische eigenschappen van den Vibrio cholerae, hebben den kommavorm, zijn Gram-negatief, levendig beweeglijk, vervloeien gelatine in trechtervorm en geven, in een peptonwatercultuur, een positieve nitroso-indol- en een sterke indol-reactie volgens Ehrlich.

Door middel van een specifiek immuunserum ontstaat een duidelijke, grofvlokkige agglutinatie tot aan de titergrens.

Op bloedplaten, die 10 % geitenbloed bevatten, vertoonen ze een kleinen, groenachtig getinten hof, waarin spectroscopisch geen oxyhaemoglobine is aan te toonen, een bewijs dus voor het haemodigestief vermogen, terwijl ze in bloedbouillon géén haemolyse geven.

Waren bovenstaande eigenschappen voor beide stammen gelijk, in virulentie waren ze zeer verschillend: $\frac{1}{2}$ agarcultuur van No. 120, gesuspendeerd in zoutsolutie, doodde een konijn van gemiddeld gewicht binnen 24 uur na intraveneuze inspuiting, terwijl daarvoor van No. 1624 $2\frac{1}{2}$ agarculturen noodig waren.

Gaan wij thans na, wat er pathologisch-anatomisch te zien is na intraveneuze inspuiting van choleravibrionen. Hierbij moeten we verschil maken tusschen de gevallen, die chronisch verloopen, en die, welke binnen 24 uur met den dood eindigen.

Na een ziekte van 8 dagen zien we het volgende:

Het dier is sterk vermagerd, staart en achterpooten, die reeds enkele dagen hun dienst weigerden, zijn bezoedeld door diarrhee. Bij het openen treft ons de groote droogte van huid en spierlagen.

Direct valt de sterke roodheid van de darmen op, die vochtig glanzen. Uit de flanken vloeit wat bloedig vocht.

De maag is matig gevuld, vertoont geen afwijkingen, de reactie is zwak zuur. De dunne darm in zijn geheel ziet rood, hier en daar met zwartroode plekken, vooral in het onderste gedeelte. De wand is op sommige plaatsen gezwollen, op andere zóó dun, dat men er den inhoud door ziet bewegen en de vergroote lymphfollikels als grijze plekjes ziet doorschemeren. De darm is gevuld met een dunvloeibare, slijmerige, geel-groen gekleurde, soms bloederige massa. Hier en daar is hij door gas uitgezet.

De mesenteriaalvaten zijn sterk gevuld.

De appendix is gezwollen, vooral de binnenzijde is één roode, bloedige massa. Het coecum is uitgezet, bevat een half-vloeibare, bruinroode substantie en in den wand zijn op tal van plaatsen bloedingen te zien.

Het colon lijkt vrij normaal, de flexura sigmoïdea en het rectum zijn niet gevuld, vertoonen geen afwijkingen.

De lever ziet er uit als bij vettige degeneratie, de galblaas is klein, met witte gal gevuld.

De milt is niet vergroot, donkerrood van kleur en is bros.

De nieren geven haemorrhagische haarden te zien.

De blaas is klein, bevat een weinig troebele vloeistof, het hart wat donker, ingedikt bloed.

De longen vertoonen enkele bloedingen.

In acute gevallen krijgt men eveneens het beeld van een zware enteritis te zien, waarbij vooral de dunne darm sterk aangedaan is. Openen we den hyperaemischen darm, dan vloeit daaruit een groenachtig, slijmige massa, die hier en daar wat bloed bevat. Het slijmvlies is oedemateus en ziet opvallend rood.

De andere organen zijn meestal normaal, bloedingen gewoonlijk niet aanwezig.

Wat betreft de plaatsen, waar de vibrionen teruggevonden worden, zij verwezen naar de samenvatting van alle onderzochte gevallen op blz. 78.

Na eenmalige inspuiting bij normale konijnen vindt men ze als regel in het darmkanaal en vaak in de galblaas terug.

De nu volgende reeksen konijnen kregen intraveneus een of

meermalen suspensies van levende choleravibrionen, hoofdzakelijk om de doodelijke dosis van de stammen No. 1624 en 120 te bepalen. Tevens hadden we daarbij gelegenheid het verloop van de ziekte waar te nemen, het pathologisch-anatomisch beeld te bestudeeren, en de verdeeling van de vibrionen in het lichaam na te gaan en het verloop van de agglutininen te volgen.

Een deel van deze dieren diende als contrôle en zal in de betreffende reeksen weer teruggevonden worden.

Konijn no. 86.
dosis : 26—IV, 5, 9 en 12—V 2 agarculturen no. 1624 in 1 c.c. physiologisch water intraveneus.
Het dier bleef aanvankelijk gezond, had goeden eetlust, geen diarrhee, nooit vibrionen in de faeces en stierf 2 dagen na de laatste inspuiting. Pathol.-anat. beeld typisch, uitzaaiingen negatief.
Agglutinatie : 4 dagen na de eerste injectie positief 1000, tot den dood toe op die hoogte blijvend.

Konijn no. 92.
dosis : 29—V en 2—VI 2 agarculturen no. 1624 in 1 c.c. physiologisch water intraveneus.
Het dier stierf den dag na de laatste inspuiting. Pathol.-anat. beeld typisch. Vibrionen in bloed en inhoud dunnen darm.
Agglutinatie : 31—V. positief 25.
2—VI. positief 100.

Konijn no. 87, gewicht 2400 gram.
dosis: 2 agarculturen no. 1624 in 2 c.c. physiologisch water intraveneus. Het dier at 2 dagen niet, zat stil in zijn hok, had geen diarrhee, en temperaturen schommelend om 40—41°. In dien tijd daalde het gewicht tot 2200 gram. Daarna werd het weer normaal.
Agglutinatie: steeg in de eerste week tot 1000 en later, nadat het dier 1 oogje vibrionen intraveneus kreeg, tot 5000.

Konijn no. 65, gewicht 2900 gram.
dosis: intraveneus 3 agarculturen no. 1624 in 2½ c.M³. physiologisch water. Werd den volgenden morgen dood gevonden. In de buikholte exsudaat, dunne darm sterk hyperaemisch. Uitzaaiingen in peptonwater en op de bloedalkaliplaat volgens Dieudonné van inhoud verschillende darmgedeelten positief, van bloed negatief.

Konijn no. 66, gewicht 2600 gram.
dosis: 1 oogje in 1 c.M³. physiol. water; volgenden middag 2½ agarcultuur in 2½ c.M³. physiol. water intraveneus. Een deel van de suspensie kwam in het onderhuidsche weefsel van het oor terecht.
Verloop: Volgenden dag had het dier geen eetlust, lichte diarhee, was onvast ter been, werd binnen 40 uur na de inspuiting dood gevonden. Pathol-anat. beeld typisch. Uitzaaiingen positief. Het was in dien tijd 300 gram afgevallen.

Konijn no. 90, gewicht 2350 gram.
dosis: 1 oogje in 1 c.M³. physiol. water; volgenden middag 2½ agarcultuur in 2 c.M³. physiol. water. Een deel van de suspensie kwam in het perivasculaire weefsel terecht.
Verloop: Het dier was gedurende een 3-tal dagen zwaar ziek, zat stil, met hangende ooren, at niet, had diarrhee, waarin vibrionen gevonden werden. In dien tijd viel het 400 gram af. Enkele dagen na de inspuiting was het agglutineerend vermogen positief 1000; het konijn werd weer volkomen gezond.

Konijn no. 68, gewicht 2500 gram.
dosis: 2½ agarcultuur no. 1624 in 3 c.M³. physiol. water intraveneus.
Het werd den volgenden morgen, dus binnen 18 uur, dood gevonden. Pathol.-anat. beeld typisch. Uitzaaiingen van dunnen darm alle positief. Ook in maag en dikken darm werden vibrionen aangetroffen.

Konijn no. 69, gewicht 2650 gram.
dosis: 2½ agarcultuur no. 1624 in 2 c.M³. physiol. water intraveneus.
Het dier maakte den volgenden dag een zwaar zieken indruk en werd den morgen daarop dood gevonden, tusschen 24 en 40 uur dus na de inspuiting.
De aanblik van de buikholte gaf geen typisch beeld, alle uitzaaiingen waren echter positief.

Uit bovenstaande gegevens mag dus wel afgeleid worden, dat de doodelijke dosis van No. 1624, intraveneus toegediend, voor konijnen van gemiddeld gewicht ongeveer 2½ agarcultuur bedraagt.

Konijn no. 312, gewicht 2600 gram.
dosis: ¼ agarcultuur no. 120 in 0.6 c.M³. physiol water intraveneus, 1—X.
Verloop: 2½ uur daarna wordt 2 c.M³. bloed afgenomen uit de randvena van het oor en gedeeltelijk op platen van Dieudonné uitgestreken, de rest na 24 uur bij 37° bebroed te zijn in peptonwater. Slechts op deze laatste platen kwamen enkele cholerakolonies op.
Het dier was 2 dagen ziek, at niet, viel 300 gram in 4 dagen af, waarna het zich geheel herstelde.
Agglutinatie:

datum	contr.	12½	25	50	100	250	500	1000
3—X	—	—						
4—X	—	clar.	+	+	—			
5—X	—	clar.	clar.	++	+	—		
9—X	—	clar.	clar.	clar.	clar.	clar.	+	—
13—X	—	clar.	clar.	clar.	clar.	clar.	clar.	—
19—X	—	clar.	clar.	clar.	clar.	++	+	+

Konijn no. 408, gewicht 2950 gram.
dosis: 0,4 agarcultuur no. 120 in 0.6 c.M³. physiol. water intraveneus.
Verloop: was 2 à 3 dagen ziek, at niets, had diarrhee, viel in dien tijd 450 gram af, herstelde zich daarna volkomen.
Agglutinatie: na 4 dagen positief 25.
na 7 dagen positief 500.
na 11 dagen positief 1000.

Konijn no. 315, gewicht 2450 gram.
dosis: intraveneus 0,4 agarcultuur no. 120 in 0.7 c.M³. physiol. water.
Het dier herstelde na enkele dagen ziek geweest te zijn, waarin het 300 gram in gewicht afnam.
Agglutinatie: na 1 dag negatief.
na 5 dagen positief 100.
na 9 dagen positief 2000.

Konijn no. 313, gewicht 2150 gram.
dosis: intraveneus 0,5 agarcultuur no. 120 in 0,8 c.M³. physiol. water.
Den volgenden morgen, binnen 18 uur na de inspuiting, werd het dood gevonden, nog warm aanvoelend.
Bij obductie bleek de dunne darm vooral in het onderste gedeelte sterk geïnjicieerd, inhoud geelgroen en slijmerig; in flexura sigmoïdea en het rectum diarrhoeïsche ontlasting. In den dunnen darm werden vibrionen gevonden, andere uitzaaiingen alle negatief.

Konijn no. 55, gewicht 2000 gram.
dosis: intraveneus 0,8 agarcultuur no. 120 in 0,7 c.M³. physiol. water.
Na enkele uren was het dier zwaar ziek en stierf in den loop van den volgenden morgen, dus na ± 20 uur.
Pathol.-anat. beeld typisch, uitzaaiingen van dunnen darm positief, van bloed en gal negatief.

Konijn no. 400, gewicht 2350 gram.
dosis: 1 agarcultuur no. 120 in 0,7 c.M³. physiol. water intraveneus.
Den volgenden morgen was het dier zwaar ziek, had niets gegeten, diarrhee. De achterpooten waren verlamd, het hield de oogen gesloten, hijgde en voelde koud aan.
Enkele uren daarna stierf het.
Sterke veranderingen in den dunnen darm.
In alle darmgedeelten werden vibrionen gevonden.

Ook de konijnen No. 46, 47 en 48, die als contrôle dienden in de nader te beschrijven proefreeksen, bewezen, dat 0,5—1 agarcultuur No. 120 binnen 24 uur een konijn van gemiddeld gewicht dooden bij intraveneuze inspuiting.

V. DE INVLOED VAN PER OS GEGEVEN LEVENDE OF GEDOODE VIBRIONEN EN RUNDERGAL OP DE VORMING VAN ANTISTOFFEN.

Uit tallooze proeven, in den loop der jaren genomen, was bekend, dat de gebruikelijke laboratoriumdieren gevoelig zijn voor het virus van paratyphus, typhus, dysenterie en cholera, mits dit op doeltreffende wijze werd toegediend. Na den dood bleek steeds het darmkanaal de plaats, waar zich de zwaarste laesies bevonden, en — hoe ook ingebracht — het was bijna uitsluitend het darmkanaal, waarin de bacteriën teruggevonden werden.

Bedenken we nu ook, dat de natuurlijke infectie steeds langs het darmkanaal plaats vindt en de proeven om dieren langs dien weg te besmetten meest onbevredigende resultaten opleverden, dan volgt daar wel uit, dat de natuur dat gedeelte van het lichaam, hetwelk het meest gevoelig is, ook toegerust heeft met de beste afweermiddelen.

Behalve in de verschillende lichaamsvochten — waarvan aan het maagsap vooral een groote rol wordt toegekend — moeten we deze zoeken in het oppervlakkige darmbekleedsel.

Het is niet moeilijk daarvoor enkele bewijzen bijeen te brengen; beperken wij ons tot wat we bij het konijn te zien krijgen.

1°. Ongestraft kan het groote hoeveelheden bacteriën verdragen, die door den mond binnenkomen. Het normale darmbekleedsel is dus in staat ze tegen te houden.

2°. Langs intraveneuzen weg toegediend, is ziekte of een doodelijke infectie het gevolg bij een veel kleinere dosis: door middel van de bloedbaan worden de bacteriën of haar producten in den darmwand afgezet, waarin de eerste ook aan te toonen zijn.

Subcutaan of intraperitoneaal toegediend, gaan ze,

gedeeltelijk langs lymphevaten, gedeeltelijk langs de bloedbaan naar den darm; in al deze gevallen wordt dus de barrière vermeden.

3°. Ontneemt men den darm die beschermende laag, bijv. door het dier een laxans toe te dienen als Ol. crotonis (Shiga, Flexner), podophylline (Cantacuzène en Marie), door het inspuiten van een enterolytisch serum (Nasta) of door gesteriliseerde gal (Besredka), dan vertoont het zijn gevoeligheid voor deze darmziekten en geeft na toediening per os, al naar gelang van dosis, virulentie, wijze van innemen en weerstand, een doodelijk verloopende ziekte of meer of minder ernstige symptomen te zien.

De eenvoudige toediening van gal, die konijnen niet schaadt, stelt ons dus in staat om schijnbaar ongevoelige dieren te „sensibiliseeren".

Zoo gelukte het aan Besredka, konijnen te infecteeren met paratyphus- en typhusvirus, en aan Masaki met choleravibrionen, waartegen zij zonder gal geheel refractair waren. Door andere verhoudingen te kiezen konden zij op deze wijze ook vaccineeren tegen een doodelijke dosis.

Voor de dysenterie bleek gal niet noodig, wat Besredka toeschreef aan het dysenterietoxine, dat sterk desquameerend op het darmepithelium werkt.

Deze weerstandsverminderende of sensibiliseerende werking van de gal komt niet alleen tot uiting na infectie langs het darmkanaal, doch ook na intraveneuze injectie. Uit proeven van Besredka[78] bleek, dat na toediening van gal een veel kleinere hoeveelheid paratyphusbac. het dier langs dien weg doodde. (p. 565). Waar voor een konijn van ± 2 K.G. de letale dosis intraveneus $^1/_5$—$^1/_{10}$ agarcultuur bedroeg, was dat na toediening van gal per os $^1/_{50}$—$^1/_{100}$ cultuur.

Intratracheaal ingespoten, werkt pas 1 agarcultuur levende paratyphusbacillen doodelijk: een bewijs voor de groote beschermende kracht, waarover het alveolair epithelium beschikt.

Spuit hij te voren $\frac{1}{2}$ c.M.^{3} 5 % galoplossing intratracheaal in, wat op zichzelf goed verdragen wordt, dan werkt $^1/_{50}$—$^1/_{100}$ cultuur al doodelijk, dezelfde hoeveelheid, die voor intraveneuze

inspuiting doodend bevonden werd. Heel karakteristiek noemt Besredka het weerstandsvermogen, dat overblijft na het ontnemen van de natuurlijke defensiemiddelen, de „résistance propre", die voor intraveneuze en intratracheale inspuiting gelijk blijkt te zijn.

Wat betreft de toediening van de rundergal, die op 120° gesteriliseerd wordt, Besredka en in navolging van hem ook Masaki, gaven aan vastende konijnen 8 à 10 c.M.³ gal, vermengd met zoethoutpoeder, om er de bitterheid wat aan te ontnemen, den volgenden dag wederom die hoeveelheid en enkele uren later het virus.

Zij maakten dus gebruik van de werking van gal en lrongeren beide.

Ook ik heb getracht de gal op deze wijze te geven. De groote moeite, die het mij kostte, dit mengsel op den duur geheel te laten verorberen, deed mij bij de toediening per maagsonde blijven.

Voorts gaf ik de gal in verschillende doses, waaruit bleek, dat een hoeveelheid van 10 c.M.³ niet noodig was, doch dat men ook met $2\frac{1}{2}$ c.M.³ wel uitkomt.

Masaki[74] toonde aan, dat groote hoeveelheden levende vibrionen, aan vastende cavia's en konijnen per os gegeven, bij deze dieren geen verschijnselen verwekten (blz. 407), wat ook Deggeller[10] destijds in het Laboratorium voor de Gezondheidsleer te Amsterdam gevonden had en uit mijn proeven bleek.

Nemen we echter de agglutininen als indicator der reactie van het lichaam op de ingedrongen vibrionen of hun producten, dan komen verschillen aan het licht.

Herhaald onderzoek op agglutininen bij een konijn C, dat levende vibrionen, en konijn D., dat gedoode vibrionen kreeg, beide driemaal 1 agarcultuur op een flesch van Roux, gaf steeds negatieve uitkomsten. Masaki leidde daaruit af, dat het darmslijmvlies van het konijn een ondoorgankelijke barrière vormt tegen vibrionen en hun producten, waardoor het refractair tegenover cholera lijkt te zijn.

Deggeller trof in zijn reeks van 14 konijnen er 3 aan, wier bloedserum in een verdunning van $^1/_{100}$ agglutineerde. De 5 %

sodaoplossing, die te voren per sonde gegeven werd en diende om den maaginhoud te neutraliseeren, kan hiervoor geen verklaring geven, daar dit ook bij de andere dieren geschiedde.

Een van de 3 vormde een afwijking op den eerst gevonden regel; dit dier (C, blz. 445) werd n.l. daags na de eerste toediening ziek, beterde na een paar dagen, doch vermagerde voortdurend, waarop het na 14 dagen opnieuw ziek werd. Naast agglutininen bevatte dit serum bacteriolysinen.

GLOTOFF[77] vond onder 10 konijnen, die 3 dagen achtereen met gedoode choleracultuur behandeld waren, 1 dat agglutineerde in de verdunning $^1/_{10}$—$^1/_{20}$.

Ook ik zag bij 2 konijnen, No. 311 en 314, na toediening van vibrionen per os agglutininen ontstaan, de dieren bleven echter gezond.

---

1. LEVENDE VIBRIONEN ALLEEN.

Konijn no. 85, gewicht 2400 gram, krijgt per sonde 2 × per week, totaal 17-maal, een 24 uur oude cultuur van no. 1624 in een flesch van Roux, gesuspendeerd in peptonwater.

Het dier bleef volmaakt gezond, had goeden eetlust, nam in 2 maanden 500 gram in gewicht toe, vertoonde nooit diarrhee, noch vibrionen in de ontlasting, was dus volkomen onverschillig voor de groote hoeveelheid levende vibrionen.

In het bloedserum werd nooit een spoor van agglutininen aangetroffen, zelfs niet na de eerste dosis.

2½ maand na het begin van de proef werd het dier dood gevonden met een bloeding in de rechterlong. In de darmen werden macroscopisch geen afwijkingen gevonden. In den dunnen darm bevonden zich vibrionen, in dikken darm en rectum niet — een verklaring dus voor het steeds negatief blijven van de faeces.

Konijn no. 88, gewicht 2200 gram, krijgt 3-maal, met tusschenpoozen van 3 dagen, per sonde een hoeveelheid levende vibrionen als no. 85. Nòch voor het begin, nòch tijdens de proef konden agglutininen aangetoond worden. Het dier had geen diarrhee, at echter niet en viel af. 10 dagen na het begin van de proef moest het afgemaakt worden, daar het door een gevecht in een deerniswaardigen toestand verkeerde. Obductie werd verzuimd.

Konijn no. 305, gewicht 2600 gram, krijgt na 24 uur vasten per sonde 10 c.M³. peptonwater, waarin de cultuur van 2 flesschen van Roux gesuspendeerd is. Eenige uren daarna wordt het vasten opgeheven. Het dier bleef volmaakt gezond en nam in gewicht toe. In de volgende dagen werd in het bloedserum naar agglutininen, in de faeces naar vibrionen gezocht: beide echter steeds met negatieve resultaten.

Konijn no. 311, gewicht 1750 gram, krijgt op 11—XII na gevast te hebben op een koolblaadje 1 plaatcultuur (straal van de plaat 7 c.M.) levende vibrionen, op 14, 17, 21, 28—XII, 4 en 7—I een zelfde hoeveelheid, doch nu door middel van een gebogen glazen spatel achter op de tong gebracht.

Het dier blijft levendig, houdt goeden eetlust en komt aan.

Agglutininen: op 21—XII: $^1/_{12}\frac{1}{2}$ clarificatie, $^1/_{25}$ positief.
op 28—XII: $^1/_{12}\frac{1}{2}$ clarificatie, $^1/_{25}$ clarificatie.
op 11—I: negatief.

Bacteriolysinen: op 11—I:
toevoeging van 1 druppel serum gaf na 1 uur sterke vibriolyse, doch ook levende vormen te zien.
Den volgenden morgen was de contrôle-cavia dood, de gebruikte in leven.

Preventiefstoffen: $1\frac{1}{2}$ c.M³. van dat serum, subcutaan bij een cavia ingebracht, bleek dit dier niet te beschutten tegen een doodelijke dosis, den volgenden morgen intraperitoneaal ingespoten.

Stemmen dus de waarnemingen van No. 85, 88 en 305 met de vondsten van Masaki overeen, No. 311 — trouwens op een andere wijze vóórbehandeld — is daarmee in strijd.

Of de grootere dosis, of de manier van toedienen is daarvoor aansprakelijk. Waar de eerste factor niet waarschijnlijk te achten is, zouden we misschien moeten denken, dat een deel der vibrionen geresorbeerd werd door het slijmvlies van mondholte en oesophagus en zóó via lymphspleten en bloedbaan in den darmwand geraken (Sanarelli[79]).

---

2. GEDOODE VIBRIONEN ALLEEN.

Konijn no. 95, gewicht 2100 gram, kreeg per sonde 4 × gedoode vibrionen, met tusschenruimten van een week, waartoe de cultuur van een flesch van Roux, in peptonwater gesuspendeerd, $\frac{1}{2}$ uur lang in een waterbad van 60° verhit werd.

Het dier bleef gezond, hield goeden eetlust, had geen diarrhee en nam in gewicht toe.

Vóór de proef en voorts 2 × per week werd wat bloed afgenomen, doch nooit werden daarin agglutininen aangetoond.

Konijn no. 314, gewicht 3480 gram, kreeg 11—XII na gevast te hebben, 1 plaatcultuur vibrionen no. 120, 1 uur in een stoof van 56° verhit, in een koolblad, op 14, 17, 21, 28—XII. 4, 7—I per spatel achter op de tong. Het dier viel af, doch maakte geen zieken indruk.

Agglutininen: op 21 en 28—XII, 4, 11—I $^1/_{12}\frac{1}{2}$ positief, $^1/_{25}$ positief.

Bacteriolysinen: 1 druppel serum gaf na een uur slechts geringe bacteriolyse te zien. Den volgenden morgen was de cavia dood.

Preventiefstoffen: $1\frac{1}{2}$ c.M³. serum, subcutaan bij een cavia ingespoten, beschutte het den volgenden morgen niet tegen een intraperitoneale injectie.

Ook dit laatste konijn vormt dus een uitzondering op de conclusie van Masaki, dat konijnen ongevoelig zijn voor per os toegediende vibrionen.

---

3. ALLEEN GAL.

Om na te gaan, of gal op zichzelf aanleiding geeft tot bezwaren, werd aan enkele contrôledieren per sonde gesteriliseerde rundergal toegediend.

Konijn no. 86, gewicht 2100 gram, kreeg 2 × 10 c.M³. gal, 10 dagen na elkaar. Reeds enkele dagen na de eerste toediening werd het dier lusteloos, at weinig, kreeg diarrhee en nam sterk in gewicht af. Daarom werd het sondeeren gestaakt en dit contrôledier vervangen door een ander.

Konijn no. 58, gewicht 3550 gram, kreeg 5 × 10 c.M³. gal. Dit dier bleef gezond, had geen diarrhee, doch vertoonde een sterk wisselende gewichtskromme. Tijdens een longziekte-epizoötie viel ook dit konijn als slachtoffer. Beide dieren hadden nooit agglutininen in het bloed.

Een duidelijk bewijs voor de onschadelijkheid van de rundergal leveren beide konijnen niet, doch wel blijkt dat uit de reeksen, waarin de gal gelijk met levende of gedoode vibrionen werd gegeven.

---

4. GAL EN INTRAVENEUS LEVENDE VIBRIONEN.

Konijn no. 301, gewicht 1900 gram.
dosis: kreeg te 10 uur voorm. na gevast te hebben per sonde 10 c.M³. gesteriliseerde rundergal en te 5 uur nam. intraveneus 0,6 c.M³. physiol. water, waarin ½ agarcultuur no. 1624. Een uur daarna werd het vasten opgeheven.
Slechts enkele dagen was het minder tierig dan anders en viel in dien tijd 100 gram af.
Agglutinatie: na 7 dagen positief 250.
na 20 dagen positief 500.

Konijn no. 302, gewicht 2250 gram.
dosis: kreeg te 10 uur voorm. na gevast te hebben per sonde 10 c.M³. rundergal en te 5 uur nam. intraveneus 1,5 c.M³. physiol. water, waarin 1 agarcultuur no. 1624. Een uur daarna kreeg het weer voedsel.
Verloop: het dier bleef de volgende dagen stil in zijn hok zitten, roerde het voedsel niet aan en vermagerde van dag tot dag.
In de faeces werden vibrionen aangetoond. Het voelde steeds koud aan en gaf geen bloed uit de oorvena. 8 dagen na de inspuiting werd het dood gevonden, zeer sterk vermagerd (van 2250—1550 gram), de staart en achterpooten bezoedeld door dunne ontlasting.

Bij de *obductie* trof de sterke roodheid van de ingewanden, met bloedingen in den wand van dunnen en dikken darm, voorts in de nieren. In de buikholte bloedig exsudaat. De darmen zijn met een bloedig slijmerige massa gevuld. Hart, longen, milt en lever vertoonen geen afwijkingen.

Uitzaaiing van dunnen en dikken darm, rectum en galblaas gaf enkele vibrionen te zien; bloed, maag, duodenum, milt, negatief.

Konijn no. 304, gewicht 2650 gram.
dosis: te 5 uur nam. 1,5 c.M³. physiol. water, waarin 1 agarcultuur no. 1624, dus dezelfde hoeveelheid als no. 302, doch zonder vooraf gal gekregen te hebben.
Verloop: het dier werd nauwelijks ziek, daalde in 1 week 200 gram in gewicht.
Agglutinatie: na 7 dagen positief 250.
na 20 dagen positief 500.

Deze proeven, in navolging van Besredka genomen, bewijzen dus de „sensibiliseerende" werking van de gal, waardoor een op zichzelf onschadelijke hoeveelheid vibrionen thans den dood van het dier ten gevolge heeft.

---

5. GAL EN LEVENDE VIBRIONEN PER OS.

In deze reeks werd den konijnen per sonde gal en levende vibrionen toegediend en wel in verschillende hoeveelheden en een verschillend aantal malen. Dit, om zoo mogelijk den invloed na te gaan van den aard van het vaccineeringsproces op de vorming van antistoffen, in casu de agglutininen.

De gevolgde methode was voor alle dezelfde.

Nadat de dieren dien dag gevast hadden, kregen ze 's middags per sonde een bepaalde hoeveelheid gesteriliseerde rundergal. Den volgenden morgen op nuchtere maag kregen ze weer dezelfde hoeveelheid gal en daarna een suspensie van levende choleravibrionen in peptonwater.

Herhaaldelijk werd in de ontlasting of diarrhee naar vibrionen gezocht, echter steeds met negatief resultaat. De faeces werden in een mortier fijngewreven, met peptonwater vermengd, 24 uur bij 37° weggezet en daarna op Dieudonné uitgestreken en ook bacterioscopisch nagezien.

Konijn no. 83.
dosis: 10 c.M³. gal en 2 agarculturen no. 1624, 2-maal met 10 dagen tusschenruimte.

verloop: de eerste dagen geen eetlust, diarrhee, waarin geen vibrionen, 2 dagen na de tweede dosis werd het dood gevonden. De buikholte gaf het typisch aspect. Nòch bloed en gal, nòch de inhoud van de verschillende darmgedeelten bevatten vibrionen, ondanks het feit, dat 2 dagen te voren levende vibrionen waren ingebracht.

agglutininen: steeds negatief.

Konijn no. 82, gewicht 2180 gr.

dosis: 1 c.M³. gal en $^1/_8$ flesch no. 1624, 4-maal met 1 week tusschenruimte. Dit werd aanvankelijk goed verdragen ; na de 3de dosis begon het sterk te vermageren, kreeg diarrhee en stierf een week na de vierde dosis onder verschijnselen van benauwdheid.

obductie: infiltraten in beide longen, longoedeem ; de darm vertoonde weinig typische veranderingen. Bloed, gal, darminhoud bevatten géén vibrionen.

agglutininen: na 1ste dosis negatief.
na 2de dosis positief 12½.
na 3de dosis negatief.
na 4de dosis positief 25.

Konijn no. 309, gewicht 2750 gram.

dosis: 2½ c.M³. gal en $^1/_4$ flesch no. 1624, 4-maal met 1 week tusschenruimte. Het dier ondervond niet de minste bezwaren.

agglutininen: aanvankelijk steeds negatief; 1 week na de vierde dosis $^1/_{25}$ positief, 3 weken daarna weer verdwenen.

Konijn no. 93, gewicht 3100 gram.

dosis: 2½ c.M³. gal en $^1/_4$ flesch no. 1624, 8-maal en wel 2-maal per week. Het dier ondervond daarvan geen bezwaren, at best en vertoonde een gelijkmatige gewichtskromme.

agglutininen.

datum sondeeren	datum agglut	contr.	12½	25	50	100	250
	28— V.	—	—				
29— V.	31— V.	—	+	(+)			
2— VI.	4— VI.	—	+				
5— VI.	7— VI.	—	—	+	+	(+)	
8— VI.	9— VI.	—	+	+	+	+	+
13— VI.	15— VI.	—	clar.	(clar.)	+	(+)	
16— VI.	18— VI.	—	—	+	+	+	+
19— VI.	21— VI.	—	(clar).	(clar.)	+	(+)	
22— VI.	24— VI.	—	—	—	(clar.)	(clar.)	
	29— VI.	—	+	+	(+)		
	3—VII.	—	—				
	6—VII.	—	+	+			
	10—VII.	—	+	+			
11—VII.	13—VII.	—	+				
	17—VII.	—	+	+			
	24—VII.	—	clar.	+			

Konijn no. 321, gewicht 2150 gram.
dosis: 5 c.M³. gal en ½ flesch levende vibrionen, 1-maal.
Het dier bleef gezond en nam in gewicht toe.
agglutininen: steeds negatief.

Konijn no. 151, gewicht 2100 gram.
dosis: 5 c.M³. gal en ½ flesch levende vibrionen, 3-maal met 1 week tusschenruimte.
Het dier bleef gezond, had geen diarrhee, hield hetzelfde gewicht.
agglutininen: na 1ste dosis negatief.
na 2de dosis negatief.
na 3de dosis positief 25.
positief 50.

Konijn no. 308, gewicht 2800 gram.
dosis: 5 c.M³. gal en ½ flesch levende vibrionen, 4-maal met 1 week tusschenruimte.
Het dier ondervond daarvan geen bezwaren.
agglutininen: 1 week na de 4de dosis voor het eerst positief 25, daarna snel verdwijnend.

Konijn no. 2, gewicht 3150 gram.
dosis: 5 c.M³. gal en ½ flesch levende vibrionen, 8-maal en wel 2 × per week.
Het dier werd niet ziek, hield een gelijkmatig gewicht en wierp gedurende de behandeling een vijftal levende jongen, die uitstekend gedijden.
agglutininen:

datum sond.	datum agglut	contr.	12½	25	50	100	250
	28— V.	—	—				
29— V.	31— V.	—	(+)	(+)			
2— VI.	4 — VI.	-	(+)				
5— VI.	7— VI.	—	—	+	(+)		
8— VI.	9— VI.	—	—	+	+	(+)	
13— VI.	15— VI.	—	(+)	+			
16— VI.	18— VI.	—	(+)	+			
19— VI.	21— VI.	—	+	+			
22— VI.	24— VI.	—	—				
	26— VI.	—	+	+	(clar.)		
	29— VI.	—	(clar.)	clar.			
	3—VII.	—	+	(+)			
	6—VII.	—	+	+			
	10—VII.	—	—	(+)			
11—VII.	13—VII.	-	—				
	17—VII.	-	+				

Konijn no. 94, gewicht 2800 gram.
dosis: 10 c.M³. gal en 1 flesch levende vibrionen, 3-maal met 1 week tusschenruimte.

Tijdens de behandeling bleef het gezond en nam in gewicht toe.
agglutininen: na 1ste dosis positief 12½.
na 2de dosis positief (12½).
na 3de dosis positief 50.
positief 250.
Bijna een maand na de 3de dosis werd het dier, dat den vorigen dag al ziek scheen, dood in zijn hok gevonden.

Bij de obductie bleek, dat het dier was gestorven aan een longziekte, die al verschillende van mijn konijnen had aangetast, waarbij longen en hart door een dikke, gele laag van etterige fibrine aan elkaar en de pleura parietalis waren verbonden. Beide longen bevatten haemorrhagische, pneumonische haarden.

Maar behalve deze vondst, die den dood volkomen verklaart, hadden we gelegenheid een antwoord te vinden op de vraag:

„Reageert het konijn, dat per os gal en levende vibrionen krijgt en dat gezond blijft, ook met darmveranderingen ?"

Het antwoord luidt hier bevestigend.

Waar agglutininen in het bloed het eenige bewijsstuk leverden voor de reactie van het lichaam op de ingebrachte vibrionen, vonden we bij obductie het typische beeld, dat aan cholera gestorven konijnen ook vertoonen: den roodgekleurden dunnen darm met opvallend dunnen en doorschijnenden wand, gevuld met een vloeibare, geelgroene en slijmerige massa.

In darminhoud en galblaas werden geen vibrionen gevonden.

Konijn no. 150, gewicht 2750 gram.
dosis: 10 c.M³. gal en 1 flesch levende vibrionen, 3-maal met 1 week tusschenruimte.
Het dier bleef gezond, had geen diarrhee.
agglutininen:
na 1ste dosis positief 12½.
na 2de dosis positief 12½.
na 3de dosis positief 25.
positief 100.

Konijn no. 198.
dosis: op 9-V 10 c.M³. gal + 2 agarculturen.
op 12, 16 en 18—V 10 c.M³. gal + 1 flesch van Roux levende vibrionen.
Verloop: na de 2de dosis, op 14—V weigerde het dier voedsel, kreeg den 16den diarrhee, waarin echter geen vibrionen aangetoond konden worden, den 18den verlamming van de achterste extremiteiten.
Den 19den werd het dood gevonden. Uit bloed en darminhoud konden geen vibrionen gekweekt worden.
Agglutininen: 9 en 10—V negatief.
14, 17 en 19—V positief 1000.

Konijn no. 78, gewicht 1950 gram.
dosis: 10 c.M³. gal en 1 flesch levende vibrionen, 10-maal en wel 2 × per week.
Aanvankelijk was het dier licht ziek, wat zich in een gebrek aan eetlust uitte. Uit de gewichtskromme bleek, dat deze sterk omhoog ging, nadat het sondeeren gestaakt werd; toch steeg het gewicht ondanks een 8-tal ingesties van 1950—2250 gram.
Agglutininen:

datum sondeeren	datum agglut.	contr.	12½	25	50	100	250
	21— V.	—	—				
23— V.	26— V.	—	—				
26— V.	28— V.	—	—				
29— V.	30— V.	—	(+)				
2—VI.	3— VI.	—	(+)				
5—VI.	6—VI .	—	(+)	(+)			
8—VI.	9— VI.	—	—	(+)			
13—VI.	14— VI.	—	—				
16—VI.	17— VI.	—	—	+	+	(+)	
19—VI.	20— VI.	—	(+)	+			
22—VI.	25— VI.	—	—				
	29 - VI.	—	+				
	3—VII.	—	+	+	(clar.)		
	6—VII.	—	+	(+)			
	10—VII.	—	—	—	(clar.)		
	13—VII.	—	—				
	17—VII.	—	clar.	clar.	(+)		
	24—VII.	—	clar.	(clar.)			

Konijn no. 303, gewicht 3000 gram.
dosis: 10 c.M³. gal en 2 flesschen levende no. 1624.
Het at de eerste dagen wat minder dan anders, bleef echter op gewicht en had geen diarrhee.
Agglutinatie: bleef negatief.

Vatten we bovenstaande gegevens samen, dan zien we, dat dank zij de ossengal en de levende vibrionen, het lichaam met de vorming van agglutininen reageert.

Over het algemeen is deze na de eerste dosis niet heel rijkelijk, en zoo zien we ze ook bij 321 en 303 ondanks de groote hoeveelheid negatief blijven.

Het aantal waarnemingen is veel te klein om er regels omtrent den samenhang tusschen dosis en titer-hoogte uit af te leiden, doch wel lijkt het, alsof het meermalen toedienen van grootere hoeveelheden gal en vibrionen een verhooging van den titer

geeft. Voorts zien we, dat de hoogste waarde voor ieder dier bereikt wordt na de 3de of 4de maal.

Hoog is deze nooit; met uitzondering van No. 198, die een waarde van $^1/_{1000}$ bereikte, doch ook in het verloop van de proef stierf, bedroeg de titer tusschen $^1/_{25}$—$^1/_{250}$.

Uit de agglutinatietabellen van de konijnen No. 93, 2 en 78 blijkt, dat de titer na een volgende ingestie niet daalt, integendeel stijgt, om na enkele malen de hoogste waarde te bereiken. Gedurende de volgende handhaaft hij zich nagenoeg op die hoogte, om na het staken van de toediening langzamerhand te dalen, zonder echter geheel te verdwijnen.

Wij zullen zien, dat Masaki tot andere uitkomsten kwam en daaruit vérstrekkende conclusies trok.

---

6. GAL EN GEDOODE VIBRIONEN PER OS.

Evenals dit bij toediening van de levende vibrionen geschiedde, kregen de dieren na dien dag gevast te hebben per sonde een bepaalde hoeveelheid gesteriliseerde rundergal en den volgenden morgen wederom gal en een suspensie van choleravibrionen in peptonwater, die een half uur op 60° C. verhit werd. Enkele uren daarna werd het vasten opgeheven.

Konijn no. 89, gewicht 2350 gram.
dosis: kreeg op 18—VII, 1, 8 en 15—VIII 1 c.M³. gal en $^1/_8$ flesch gedoode vibrionen.
De eetlust bleef goed; geen diarrhee, gewicht steeg aanvankelijk, daalde later ten gevolge van een longziekte.
Agglutinatie: na 1ste dosis steeds negatief.
na 2de dosis positief 100.
na 3de dosis positief 250.
na 4de dosis positief 500.

4—IX Stierf het dier ten gevolge van een longziekte, waarbij longen en pericard bedekt waren met een laag fibrine-etter, die ook de vertakkingen van de luchtpijpen opvulde. Ook hier werd in het exsudaat een zich bipolair kleurend staafje gevonden.

Ondanks het feit, dat de laatste toediening 3 weken geleden plaats vond, bleek de wand van den dunnen darm zeer dun en geïnjicieerd en gevuld met een slijmerig dunne massa.

De galblaas was sterk uitgezet, ± 4 × 1½ c.M. en met groene gal gevuld.

Konijn no. 98, gewicht 2680 gram.
dosis: op 18—VII, 1, 8 en 15—VIII 2½ c.M³. gal en ¼ flesch gedoode vibrionen.
Eetlust goed, geen diarrhee, gewicht nam toe.
Agglutinatie: na 1ste dosis steeds negatief.
na 2de dosis negatief.
na 3de dosis positief (12½).
na 4de dosis positief 12½.

Konijn no. 99, gewicht 3250 gram.
dosis: op 18—VII, 1, 8 en 15—VIII 5 c.M³. gal en ½ flesch gedoode vibrionen.
Eetlust goed, geen diarrhee, gewicht daalde iets.
Agglutinatie: na 1ste dosis steeds negatief.
na 2de dosis positief 25.
na 3de dosis positief 25.
na 4de dosis positief 25.

Konijn no. 100, gewicht 3510 gram.
dosis: op 18—VII, 1, 8 en 15—VIII 10 c.M³. gal en 1 flesch gedoode vibrionen.
Eetlust goed, geen diarrhee, viel echter in dien tijd 500 gram af.
Agglutinatie: na 1ste en 2de dosis negatief.
na 3de dosis positief (12½).
na 4de dosis positief (25).

Konijn no. 318, gewicht 2250 gram.
dosis: 13—X 1 c.M³. gal en $^1/_8$ flesch gedoode vibrionen.
19—X 2½ c.M³. gal en ¼ flesch gedoode vibrionen.
Het dier bleef gezond, vermeerderde in gewicht.
Agglutinatie: steeds negatief.

Konijn no. 320, gewicht 2250 gram.
dosis: 13—X 5 c.M³. gal en ½ flesch.
19—X 10 c.M³. gal en 1 flesch gedoode vibrionen.
Het dier werd niet ziek, vermeerderde in gewicht.
Agglutinatie: steeds negatief.

Konijn no. 328, gewicht 2100 gram.
dosis: 14—XI 5 c.M³. gal en ½ flesch gedoode vibrionen.
28—XII, 4, 7, 10—I na den dag tevoren 2 druppels ol. crotonis in een uitgeholden wortel gekregen te hebben, met een spatel 1 plaatcultuur gedoode vibrionen achter op de tong.
Verloop: het dier viel dien tijd ± 200 gram af, was nooit ernstig ziek.
Agglutinatie: 23—XI positief 25.
24—XII positief 25.
28—XII positief 12½.
Bacteriolyse: 24—XI 1 druppel serum gaf slechts geringe vibriolyse. Den volgenden morgen werd de cavia dood gevonden.

Konijn no. 424, gewicht 1900 gram.
dosis: op 13, 16, 20, 27—XII, 6—I in een uitgeholden wortel op nuchtere maag 2 druppels crotonolie en den volgenden morgen 1 plaatcultuur gedroogde vibrionen met den spatel achter op de tong.

Verloop: het dier vertoonde na de olie lichte diarrhee, viel echter nauwelijks af en bleef oogenschijnlijk normaal.

Agglutinatie: 21 en 28—XII positief 25.
4—I positief 12½.
11—I positief 50.

Bacteriolyse: vóór de proef negatief.
11—I, 1 druppel serum gaf geringe vibriolyse, de cavia doorstond de proef. De contrôlecavia bleef langer dan gewoonlijk in leven, doch stierf den volgenden dag. De dosis was dus wel een minimale letale, waartegen het serum blijkbaar beschermde.

Preventiefstoffen: 1½ c.M³., subcutaan bij een cavia ingespoten, beschermde dit dier den volgenden morgen niet tegen een intraperitoneale injectie.

Uit deze waarnemingen zien we, dat gedoode vibrionen door de dieren goed verdragen worden; 6 van de 8 reageeren met kleine hoeveelheden agglutininen, die pas na de 2de of 3de dosis verschijnen, om na de volgende iets toe te nemen.

Bij 318 en 320 blijft de agglutinatie negatief; dat we hieruit niet mogen afleiden, dat de doses onwerkzaam waren, zal blijken uit de proeven over de waarde van de immuniteit.

Bereikte No. 89 een titer van $^1/_{500}$, de andere kwamen niet hooger dan $^1/_{25}$—$^1/_{50}$.

Glotoff vond slechts bij 3 van de 10 konijnen agglutininen en wel een titer van $^1/_{80}$.

Masaki vond een waarde van $^1/_{5120}$.

Dat de gal voor de vorming van de antistoffen niet de rol van een specificum speelt, bewijzen de konijnen No. 328 en 424, bij wie de gal vervangen werd door Ol. crotonis. Bij deze beide dieren werd de bacteriolyseproef volgens Pfeiffer bepaald; echter, hoewel er een aanduiding der verhooging van de bacteriolytische kracht in gezien kan worden, is deze toch niet sterk. Ditzelfde zou blijken bij de verschillende proefpersonen, die zoo vriendelijk waren zich aan de vaccinatie per os te onderwerpen.

Op blz. 408 geeft Masaki een agglutinatietabelletje, dat ik ter wille van de beschouwingen, die er aan vastgeknoopt kunnen worden, gedeeltelijk overneem. Konijn A werd gesensibiliseerd door gal en kreeg daarna levende vibrionen, konijn B gal en gedoode vibrionen.

C en D kregen te voren géén gal en vertoonden nooit agglutininen.

	A	B
15—IV.	1e ingestie	1e ingestie
22—IV.	1 : 10.	1 : 320.
29—IV.	1 : 20.	1 : 640.
30—IV.	2e ingestie.	2e ingestie.
2— V.	0	1 : 10.
5— V.	1 : 20.	1 : 320.
7— V.	1 : 50.	1 : 1280.
8— V.	3e ingestie.	3e ingestie.
10— V.	0.	1 : 320.
13— V.	0.	1 : 1280.
15— V.	0.	1 : 5120.
22— V.	0.	1 : 5120.

Uit deze tabel volgt:

1. Terwijl de met gal gesensibiliseerde konijnen op de voedering met levende of gedoode vibrionen aanvankelijk reageeren met vorming van agglutininen, is daarvan bij de niet-gesensibiliseerde dieren geen spoor te bemerken.
2. Er bestaat een opmerkelijk verschil in het agglutineerend vermogen van A en B. Bij voedering met gal en levende vibrionen wordt als hoogste waarde een titer van $^1/_{50}$ bereikt, die na een derde toediening *geheel* verdwijnt, terwijl na gal en gedoode vibrionen reeds na 1 week een titer van $^1/_{320}$ wordt gevonden. Wel daalt het agglutineerend vermogen na de 2de ingestie tot $^1/_{10}$, doch stijgt daarna snel, om tenslotte een hoogste waarde van $^1/_{5120}$ te bereiken.
3. Er is een samenhang tusschen de agglutinatiecurve en de voedering met vibrionen.
4. Bij konijn A daalt klaarblijkelijk de titer na den 2den maaltijd zóó, dat hij 2 dagen daarna geheel verdwenen is, om eerst daarna geleidelijk terug te keeren en een grootere hoogte (1 : 50) te bereiken.

Na de derde dosis daalt hij weer tot 0, om *niet* weer terug te komen.

5. Bij konijn B zien we na de 2de toediening een soortgelijke daling, echter *niet* tot 0, een stijging in de dagen daarna, weer tot grooter hoogte dan te voren.

   Ook de 3de voedering wordt gevolgd door een inzinking in de curve, die echter reeds op een hooger niveau blijft en die daarna tot een maximum van $^1/_{5120}$ oploopt.

6. De overeenkomst tusschen beide is de daling van den titer na een nieuwe gift, het verschil, dat na voedering met levende vibrionen de titer op een bepaald oogenblik geheel verdwijnt, terwijl hij na voedering met gedoode vibrionen tot een zekere waarde steeds grooter wordt, om daarop een tijdlang te blijven.

Tot een beter begrip van het nu volgende moge Besredka's hypothese omtrent infectie en immuniseering een plaats vinden. Beschut door het slijmvlies liggen in den darmwand de ,,cellules réceptrices'', vermoedelijk de lymphfollikels, die de dragers van de immuniteit zouden zijn.

Zoolang deze laag intact blijft, gaan de microben zonder het dier te schaden door het darmkanaal. Doch zoodra daarin een bres komt, b.v. door tusschenkomst van de desquameerende werking der gal, krijgen we contact tusschen deze celgroepen en de microben of het toxine. Dan zijn er twee mogelijkheden: òf het ,,appareil récepteur'' wordt overrompeld, het virus verspreid door het lichaam, waarop een ernstige of doodelijke infectie volgt, òf ,,le virus est en quantité faible et dans ce cas les cellules réceptrices l'arrêtent, le détruisent, le digèrent et en le faisant se vaccinent''. Als bewijs van dezen strijd — en niet als verweermiddelen — zouden de antistoffen ontstaan.

Komt daarna een tweede infectie, dan wordt dit virus of het grootste gedeelte ervan door de gevaccineerde cellen tegengehouden, m. a. w. het dier blijkt immuun te zijn. Deze immuniteit is dus gebonden aan den darmwand, dus locaal.

Mooier illustratie dan de beschreven proef van Masaki voor deze hypothese is haast niet denkbaar.

De darmwand van de onvóórbehandelde dieren bleek ondoorlaatbaar voor levend en gedood virus; ossegal verschafte de gewenschte bres, de strijd tusschen het antigeen en het lichaam leverde agglutininen op.

De eerste dosis levende vibrionen immuniseerde blijkbaar niet volledig: de tweede maal gelukte de invasie weer (waardoor de daling van de agglutininen ontstaat, beschrijft Masaki niet), doch de derde maal scheen de prikkel uitgewerkt te zijn: de agglutininen waren en bleven weg: de barrière was dus afgesloten.

Proef op de som: de konijnen, aldus met gal en levende vibrionen vóórbehandeld, bleken immuun te zijn, ondanks het ontbreken van antistoffen. (Masaki bepaalde echter alléén de agglutininen). De immuniteit kon dus daarvan niet afhankelijk zijn, is dus locaal, aan den darmwand gebonden.

Na het toedienen van gedoode vibrionen nam de titer steeds toe, de barrière sloot zich dus niet: deze dieren waren dus niet immuun, wat in de proef ook werkelijk het geval bleek te zijn.

Hooge waarde aan agglutininen, doorlaatbare wand — géén immuniteit: deze laatste dus *niet* gebonden aan de antistoffen (agglutininen), doch aan den darmwand. Ziedaar weer de locale immuniteit.

In tegenstelling met Masaki zijn de resultaten van mijn proeven niet geheel in overeenstemming met de hypothese van Besredka.

Weliswaar bleek de normale darmwand niet of weinig doorlaatbaar en de weerstand door gal of crotonolie te breken, doch van de daling der agglutininen door een nieuwe dosis of het plotseling verdwijnen zag ik niets.

Bovendien nam het agglutineerend vermogen in den loop van de proef toe, om, na een bepaalde hoogte bereikt te hebben, langzaam te verminderen of te verdwijnen.

Dit gold gelijkelijk voor voedering met levende en gedoode vibrionen.

Daar de dieren van beide reeksen immuun bleken te zijn, mogen we hieruit wel afleiden, dat de daling van de agglutininen onder invloed van een nieuwe dosis — een verschijnsel, dat analoog lijkt te zijn met de veelbestreden „negatieve phase''

— zoomin als de snelle daling van de antistoffen een criterium is voor immuniteit.

In hoeverre individueele reactie, aard van het antigeen en grootte van de dosis hierop van invloed zijn, wil ik in het midden laten.

Ondanks dat vind ik echter geen essentieele feiten, die in strijd zijn met de hypothese, die Besredka door zoovele waarnemingen waarschijnlijk maakte. Van de onwaarde der antistoffen voor de immuniteit, de uitsluitende beteekenis van de locale immuniteit, hier dus aan het darmweefsel gebonden, heb ik mij echter niet kunnen overtuigen.

VI. DE INVLOED VAN DE ORALE TOEDIENING VAN LEVENDE OF GEDOODE VIBRIONEN EN RUNDERGAL OP DE RESISTENTIE TEGENOVER EEN DOODELIJKE DOSIS LEVENDE VIBRIONEN.

Gaan wij thans na, of de met gal en choleravibrionen behandelde konijnen daardoor gevaccineerd zijn, dus immuun tegen een doodelijke dosis. De eerste waarneming was weinig hoopvol, al geeft ze ook aanleiding tot verschillende beschouwingen.

Te zamen met een normaal konijn werd aan No. 78 en No. 93, die langen tijd vóórbehandeld waren, intraveneus een hoeveelheid levende vibrionen toegediend, die voor normale konijnen van gemiddeld gewicht in ongeveer een etmaal doodelijk was gebleken.

Ziehier het verslag:

1e REEKS.

Konijn no. 78.

kreeg tusschen 23—V en 22—VI 10 maal per os. 10 c.M³. gesteriliseerde rundergal en 1 flesch levende vibrionen no. 1624, welke hoeveelheid het op 11—VII nog eenmaal kreeg. Aanvankelijk was het eenige dagen licht ziek geweest. Op 24—VII was het volmaakt gezond, woog 2550 gram, had een positieve agglutinatie (25).

Konijn no. 93.

kreeg tusschen 29—V en 22—VI 8-maal per sonde 2½ c.M³. gal en ¼ flesch levende vibrionen no. 1624 en dezelfde dosis nog eens op 11—VII, waarna het steeds gezond bleef.

Op 24—VII vertoonde het geen afwijkingen, slechts het gewicht was na de laatste voedering gedaald, evenals van no. 78. Het woog 2725 gram en had een positieve agglutinatie (25).

Konijn no. 69.

was niet vóórbehandeld, normaal, gewicht 2650 gram, in het bloed geen agglutininen.

In ruim 6 c.M³. physiol. water werden 8 agarculturen no. 1624, die 24 uur

bij 37° gestaan hadden, gesuspendeerd en daarna dóór watten gefiltreerd om agardeeltjes tegen te houden.

26—VII, 15 dagen na de laatste toediening, te 4 uur nam., kregen alle drie 2 c.M³. supensie in de marginale vena van het oor.

Den volgenden morgen werden no. 78 en 93 dood gevonden. Het contrôle-konijn, no. 69, zat stil in zijn hok, at niet en gaf geen bloed bij aanprikken van de oorvenen. Den morgen daarop lag ook dit konijn dood.

Obductie:

No. 78: dunne darm is rose-rood gekleurd, geen haemorrhagieën, geen vocht in de buikholte, de mesenteriaalvaten zijn sterk gevuld. De darm bevat een vloeibare massa, geel-slijmerig, hier en daar roodgekleurd. Inhoud van het colon groen, vloeibaar; galblaas sterk uitgezet, blaas gevuld, andere organen geen afwijkingen; de longen zijn oedemateus.

Opmerkelijk is, dat alle uitzaaiingen negatief bleven, dat er geen enkele cholerakolonie aan te toonen was.

No. 93: gaf hetzelfde beeld te zien: dat van een zware enteritis met long-oedeem.

Ook hier bleven alle uitzaaiingen negatief, terwijl de contrôle op de Dieudonné-platen de deugdelijkheid van dezen electieven voedingsbodem bewees.

No. 69: de darmafwijkingen waren niet uitgesproken, andere organen gaven geen bijzonderheden te zien. Uitgestreken op Dieudonné:

maag: enkele kolonies.
duodenum: tallooze.
dunne darm: nagenoeg de heele streep één massa vibrionen.
appendix: tallooze.
dikke darm: enkele.
galblaas: enkele.
bloed: enkele.
darminhoud foetus: negatief.

Bij vergelijking van No. 78 en No. 93 eenerzijds en het normale konijn anderzijds, treft ons de grootere gevoeligheid van de met choleravibrionen vóórbehandelde dieren.

No. 78 komt overeen met Masaki's konijn No. 78 (p. 413). Deze onderzoeker stelt als criterium voor immuniteit, dat de dieren tijdens het vaccineeringsproces licht ziek worden, een bewijs, dat ze een lichten aanval van cholera doormaken. No. 78 was óók ziek in het begin van de behandeling, had tot 3 dagen na de eerste toediening geen eetlust en daarop lichte diarrhee: toch beschutte hem dat niet tegen de doodelijke dosis!

Wat No. 93 betreft, dit konijn was volgens Masaki ten doode opgeschreven, eerstens omdat de hoeveelheid vibrionen te klein

was en vervolgens, omdat het tijdens de behandeling niet duidelijk ziek geweest was. Zijn dood logenstraft die bewering niet, al blijft dan ook het acute verloop een punt van nadere beschouwing.

Het feit, dat dit dier tijdens de behandeling een vrij hooge waarde aan agglutininen vertoonde, gaf het geen voorsprong op zijn lotgenooten.

Naast dit snelle verloop, waarvan ons tijd en verschijnselen ontgingen, omdat de dieren des namiddags waren ingespoten en den volgenden morgen dood gevonden werden, treft ons nog het steriel blijven van de uitzaaiingen der verschillende darmgedeelten, waar toch No. 69, onder dezelfde omstandigheden ingespoten, het typische beeld te zien gaf.

2e REEKS.

In deze reeks werd de immuniteit van 4 konijnen, die op verschillende wijzen gevaccineerd waren, op de proef gesteld en vergeleken met den natuurlijken weerstand van een normaal konijn.

Konijn no. 309,
kreeg op 27—VII, 1, 8 en 15—VIII per sonde 2½ c.M³. gal en ¼ flesch levende vibrionen, werd daarvan nauwelijks ziek en herstelde geheel. Op 7—X was het gezond, woog 2725 gram en had geen agglutininen in het serum.

Konijn no. 303,
kreeg op 11—IX per sonde 10 c.M³. gal en 2 flesschen levende no. 1624, vertoonde de eerste dagen wat minder eetlust, maar was niet ziek. Agglutinatie steeds negatief. Gewicht op 7—X 3100 gram.

Konijn no. 100,
kreeg op 18—VII, 1, 8 en 15—VIII per sonde 10 c.M³. gal en 1 flesch door verwarming op 60° gedoode vibrionen. Was oogenschijnlijk niet ziek, viel echter gedurende de behandeling 500 gram af.
Gewicht op 7—X 3200 gram, agglutinatie negatief.

Konijn no. 90,
kreeg 19—VII intraveneus in 2 c.M³. physiol. water 2½ agarcultuur no. 1624, waarvan een gedeelte in het onderhuidsch bindweefsel terechtkwam. Dagenlang was het zwaar ziek, waarbij het 400 gram afviel; daarna herstelde het.
Op 7—X was het normaal, woog 2450 gram en had een positieve agglutinatie (1000).

Konijn no. 46, gewicht 2500 gram,
is normaal en dient als contrôle; agglutinatie negatief.

Den 8—X te 3 uur nam. kregen no. 309, 303, 100 en 90 intraveneus 0,8 c.M³. suspensie van 1,5 agarcultuur no. 120 in physiol. water (de 3-voudige doodelijke dosis) en de contrôle 1 agarcultuur, door watten gefiltreerd.

No. 309: zat 2½ uur daarna ineengedoken in een hoek van zijn hok, voelde warm aan. Opvallend was een sterk piepend geluid bij de ademhaling, die versneld was, een stridor, die vooral expiratoir sterk was en heviger werd, als ik het dier opnam. De neus scheen verstopt, de oogen traanden.

Te 7.30 uur 's avonds zat het stil te hijgen, wat in een piepend geluid overging toen het hok werd opengemaakt. Er was een slijmafscheiding van de oogen.

9—X. Het heeft bijna geen kracht om zich staande te houden; het piepend geluid heeft opgehouden, alleen bij sterker inspanning is er nog iets van te hooren. Enkele uren daarna sterft het.

Obductie:

De longen zijn oedemateus, het hart is sterk uitgezet, bevat vloeibaar bloed. De darmen geven het typisch beeld van alle cholerakonijnen. Slechts in het onderste gedeelte van het ileum worden vibrionen gevonden.

No. 303: 9—X. Het dier heeft zoo goed als niets gegeten, zit stil, doch maakt geen ernstig zieken indruk.

Dit blijft zoo enkele dagen, waarin het gewicht van 3100 gram op 3000, 2600 en 2500 gram daalt. Nadat het in 3 dagen 600 gram is afgevallen, begint het weer te eten en aan te komen, zoodat van 15—X af het gewicht geregeld stijgt en het dier dus resistent blijkt.

Agglutinatie op 13—X positief 500.

No. 100: 9—X. Het dier maakt geen zieken indruk, doch heeft niet gegeten. Gew. 3150 gram.

10—X. het beweegt zich meer door het hok, heeft wat gegeten. Gew. 2770 gr.

11—X, begint goed te eten. Gew. 2750 gram.

Op grond van bovenstaande geloofde ik, dat het gered was, toen het 14—X weer slecht begon te eten.

15—X, maakt een zieken indruk, gewicht 2650 gram.

16—X, het dier sterft.

Obductie:

hart normaal, bevat vloeibaar bloed, longen bevatten enkele haemorrhagische haarden, darmen geven niet het typische beeld van de cholera, de galblaas is geweldig uitgezet, de urineblaas sterk gevuld.

Uitzaaiing gaf slechts vibrionen uit de gal.

No. 90: at 2 dagen wat minder, viel in dien tijd 200 gram af, werd daarna echter weer monter, doorstond de proefdosis dus uitstekend.

Agglutinatie op 13—X positief 2000.

No. 46: het contrôle-konijn werd den volgenden morgen dood gevonden, was in ± 20 uur gestorven. Bij obductie het typische beeld van de zware enteritis, waarbij uit den inhoud van verschillende gedeelten der darmtractus vibrionen waren te isoleeren.

Van deze reeks blijken slechts No. 90 en 303 volkomen bestand, 100 twijfelachtig, terwijl de dood van 309 aan dien van 78 en 93 doet denken.

No. 303 vertoonde nooit agglutininen en was tòch bestand, paste dus in de hypothese van Besredka. Men kan aanvoeren, dat het dier ondanks zijn immuniteit ziek werd en 600 gram in gewicht afviel. Doch ook No. 90, dat te voren een aanval van cholera doorstond, dat dus — als hier de analogie met de menschelijke pathologie opgaat — een maximum van weerstand moest bezitten, viel 200 gram af.

Wanneer we hierbij bedenken, dat langs den meest gevoeligen weg, de bloedbaan, een 3-voudige doodelijke dosis werd toegediend, behoeven ons deze verschijnselen ook niet te verwonderen.

Wat betreft No. 100, aanvankelijk leek het, alsof het de proef zou doorstaan, totdat het na een 4-tal dagen opnieuw ziek werd. Vergeleken met het contrôlekonijn heeft het een grooten voorsprong, die het wel aan het vaccineeringsproces zal te danken hebben. De krachtproef doorstond het echter niet.

In konijn No. 309 treft ons, door de eigenaardige verschijnselen en den dood — al treedt deze ook later in dan bij het normale contrôledier — de overgevoeligheid tegen het antigeen, waarmee het gevaccineerd is.

Hoe den onverwachten afloop van No. 78, 93 en 309 te verklaren ?

Al dadelijk rijst in ons de gedachte, dat wij hier te maken hebben met een anaphylactische reactie. Wel is het niet de zoozeer gevreesde anaphylactische choc, want deze had zich reeds binnen het eerste uur geopenbaard. Eer liet zich na een uur het tegendeel voorspellen: de vóórbehandelde dieren zaten in hun hok, als ware er niets gebeurd, terwijl het contrôlekonijn zat te rillen en de oogen gesloten hield.

Maar dan werden ze toch slachtoffers van een allergische reactie, een hypersensibiliteit.

S. Metalnikov[80] geeft ons in zijn studie „L'anaphylaxie et l'Immunité" enkele belangrijke waarnemingen bij zijn proeven over de immuniteit van Galleria melonella, een rups.

Deze laat zich door middel van weinig virulente choleravibrionen, in de lichaamsholte ingespoten, snel immuniseeren.

> ,,Mais, tout en supportant facilement les doses minimales mortelles, elles deviennent beaucoup plus sensibles vis-à-vis des fortes doses, en comparaison avec les chenilles normales''. (p. 635).

Deze en soortgelijke waarnemingen brengen hem er toe de anaphylaxie en de immuniteit beide als uitingen van een hypersensibiliteit van de lichaamscellen te zien. Hij zegt dan ook op blz. 636:

> ,,Ainsi selon la valeur de la dose de microbes nous obtenons chez le même animal, ou les phénomènes de l'immunité (doses faibles) ou ceux de l'anaphylaxie (doses fortes).

Van de individueele gevoeligheid van het dier zal het dan wel afhangen, of de dosis, die op de grens staat, immuniteit of anaphylaxie geeft.

Behalve bij rupsen vond Metalnikov dat ook bij caviae. Spuit men een geïmmuniseerde cavia een zwakke dosis choleravibrionen in, dan verdraagt zij dat best. Geeft men dat zelfde dier een groote dosis intraveneus of intraperitoneaal, dan sterft het in korten tijd, vaak plotseling, terwijl de normale cavia door die zelfde dosis na een langere periode te gronde gaat.

Ongetwijfeld doet de dood van No. 78 en 93 en misschien ook van 309 daaraan denken, en moet als zoodanig dus als een indirect bewijs voor de immuniteit aangezien worden, waarvoor ook het ontbreken van vibrionen in den darm pleit.

Tevens bewijst het, dat althans voor een gedeelte, het bacterieeiwit als zoodanig door het darmweefsel geresorbeerd wordt en vandaar in het bloed komt. Inspuiting van datzelfde eiwit intraveneus geeft dan onder bepaalde omstandigheden anaphylactische reacties.

Konijn no. 150.
kreeg op 1, 8 en 15—VIII 10 c.M³. gal en 1 flesch levende vibrionen no. 1624, waarna het gezond bleef.

Konijn no. 151,
kreeg op 1, 8 en 15—VIII 5 c.M³. gal en ½ flesch levende no. 1624, waarna het geen verschijnselen vertoonde.

Konijn no. 320,
kreeg op 13—X 5 c.M³. gal en ½ flesch gedoode vibrionen no. 120 en op 19—X 10 c.M³. gal en 1 flesch, waarna het niet ziek werd.
24—X had het geen agglutininen en woog 2300 gram.

Konijn no. 95,
kreeg op 18—VII, 1, 8 en 15—VIII 1 flesch gedoode vibrionen no. 1624, was nooit ziek en had geen agglutininen.

Konijn no. 301,
kreeg op 11—IX per sonde 10 c.M³. gal en dien zelfden dag intraveneus ½ agarcultuur no. 1624, gesuspendeerd in 0,6 c.M³. physiologisch water, waarna het enkele dagen minder levendig was en 100 gram afviel. Gewicht op 24—X 2070 gram, agglutinatie positief 250.

Konijn no. 47,
normaal, als contrôle, agglutinatie negatief; gewicht 2300 gram.

25—X tusschen 4 en 5 uur nam. krijgen al deze konijnen 1 agarcultuur no. 120, gesuspendeerd in 0,9 c.M³. zoutsolutie, een dosis, die als zeker doodelijk werkend was bevonden.

No. 150: 26—X, het dier zit wat stil, maakt geen zieken indruk, heeft minder gegeten.
27—X, het heeft meer gegeten, is 150 gram afgevallen.
28—X, maakt een normalen indruk, blijkt dus resistent te zijn.

No. 151: als 150, is na enkele dagen weer geheel normaal.

No. 320: als boven, is slechts weinig afgevallen en na enkele dagen weer, alsof er niets gebeurd is. Agglutinatie 19—XI positief 2000.

No. 95: wordt dood gevonden. Bij obductie zien we het typische beeld, met lichte bloedingen in den darmwand. De appendix is geheel bloedig doorloopen en met coagula opgevuld.
Uitzaaiing van galblaas en duodenum positief, andere darmgedeelten negatief.

No. 301: is enkele dagen minder tierig, eet weinig en valt 100 gram af, waarna het zich herstelt. Agglutinatie 15—XI positief 2000.

No. 47: het contrôle-konijn wordt dood gevonden, met typische darmlaesies.
Uitzaaiing van de gal en verschillende darmgedeelten positief, van bloed, dikken darm en milt negatief.

Bovenstaande reeks pleit dus voor de deugdelijkheid van de enterogene vaccinatie, zoowel met levend als gedood virus ver-

richt, daar ze alle na de zeker doodelijke dosis (contrôle No. 47) restistent bleken, evenals het intraveneus geïmmuniseerde konijn.

Konijn No. 95, dat slechts met gedoode vibrionen, zonder gal, vóórbehandeld was, bleek niet bestand te zijn tegen de krachtproef. Het volkomen gezond blijven en het nooit verschijnen van antistoffen — als bewijs, dat een gedeelte van het virus geresorbeerd werd — deden dit dan ook vermoeden: ook Masaki en Glotoff vonden hetzelfde.

Daar het voortdurend toedienen van gedoode vibrionen niet zonder invloed op het dier was, bewijst het negatief blijven van de uitzaaiingen der verschillende darmgedeelten; slechts de gal was positief, wat ook bij hooggeïmmuniseerde konijnen wel gevonden werd.

De vibrionen, die uit het duodenum gekweekt werden, zullen wel van de gal afkomstig zijn.

4e REEKS.

Konijn no. 321,
kreeg 12—X 5 c.M³. gal; 13—X 5 c.M³. gal en ½ flesch levende no. 120, waarna het nauwelijks ziek werd. Op 30—X had het geen agglutininen, gewicht 2400 gram.

Konijn no. 318,
kreeg 13—X 1 c.M³. gal en $^1/_8$ flesch gedoode no. 120 en op 19—X 2½ c.M³. gal en ¼ flesch, waarna het niet ziek werd.
Op 30—X gewicht 2550 gram, géén agglutininen.

Konijn no. 304,
kreeg 11—IX intraveneus 1,5 c.M³. zoutsolutie, waarin 1 agarcultuur no. 1624, waarna het wat afnam in gewicht, doch niet bepaald ziek werd. Op 30—X gewicht 2850 gram, agglutinatie positief 500.

Konijn no. 48,
normaal konijn, dient als contrôle, gewicht 2300 gram.

Al deze konijnen krijgen 31—X te 5 uur nam. intraveneus 1 agarcultuur no. 120 in 0,9 c.M³. zoutsolutie.

No. 321: zit de eerste dagen wat stil in zijn hok, eet weinig en valt in enkele dagen 250 gram af, waarna het zich geheel herstelt. Agglutinatie positief 2000.

No. 318: weigert den eersten dag te eten, zit stil in zijn hok. Volgenden dag begint het te eten en beweegt zich weer. Is na enkele dagen weer gezond. Is 250 gram afgevallen. Agglutinatie positief 500.

No. 304: is nauwelijks ziek den volgenden morgen, is niet noemenswaard afgevallen. Agglutinatie positief 1000.

No. 48: wordt den volgenden morgen dood gevonden met typische darmlaesies.

Ook hier zien we een 3-tal konijnen, op verschillende wijzen gevaccineerd, éénmaal met levende, tweemaal met gedoode vibrionen en één langs intraveneuzen weg, die alle drie resistent bleken, waar het contrôledier na de inspuiting te gronde ging.

Geen van de dieren is gedurende de vóórbehandeling bepaald ziek geweest — de eisch, dien Masaki stelde — de immuniteit is dus niet aan een voorafgegane ziekte te danken, wat ook uit de andere reeksen bleek.

Vergelijken we de verkregen resultaten met die van Masaki en van Glotoff, dan zien we het volgende:

Konijnen, die met gedoode vibrionen alleen (Glotoff) of met levende vibrionen alleen (Masaki) behandeld werden, bleken later niet immuun te zijn.

Masaki onderzocht de immuniteit van konijnen, die met gal en levende vibrionen vóórbehandeld waren. Onder invloed van de groote en toxische doxis stierven er verschillende, de andere herstelden zich ten slotte na een ziekte. Van deze dieren werd de immuniteit nagegaan, door ze tegelijk met 2 contrôlekonijnen een intraveneuze injectie van een doodelijke dosis te geven.

Beide contrôledieren en 2 geïmmuniseerde, die tijdens de vaccinatie niet ziek geworden waren, vielen als slachtoffer, 3 andere, die voorheen wel ziek waren, doorstonden de proef.

Het ziek worden, het doormaken van een lichten aanval van cholera, zooals Masaki zegt, beschouwt hij dus als criterium voor de immuniteit. In de inleiding betoogde ik reeds, dat deze resistentie niet als bewijs voor het nut van de orale vaccinatiemethode moge gelden, daar ook konijnen, die op andere wijzen geïnfecteerd, een aanval doorstonden, immuun blijken.

Van de 7 konijnen, met gal en levende vibrionen gevaccineerd, die ik op de proef stelde, waren er 4 resistent, terwijl er 3 in zeer korten tijd te gronde gingen.

Van deze dieren was er geen een bepaald ziek geweest.

De konijnen, die Masaki met gal en groote hoeveelheden gedoode vibrionen behandelde, bleken niet resistent. Dit, gepaard aan den hoogen titer der agglutininen, was voor hem een bewijs voor de onwaarde van deze laatste voor de immuniteit, waaruit tot de waarde van de weefselimmuniteit besloten werd.

Glotoff kwam echter tot geheel andere uitkomsten.

10 konijnen kregen op 3 achtereenvolgende dagen op nuchtere maag, na voorafgegane sensibiliseering door gal, een hoeveelheid gedoode vibrionen.

Van deze waren er 7 resistent.

Ook uit mijn proeven bleek iets dergelijks.

Van 3 aldus behandelde dieren doorstonden 2 de proef, terwijl de 3de (No. 100) eerst na verloop van 8 dagen stierf.

De analoge proeven van Besredka bewezen ook, dat de dieren zich goed met gal en gedood virus per os laten vaccineeren.

Aangezien Masaki geen beschrijving geeft van de proeven met gedoode vibrionen, laat zich deze opvallende afwijking van wat men zou verwachten, niet verklaren.

Voor de praktijk der enterogene vaccinatie zijn de uitkomsten van Glotoff en mij zeker meer bevredigend te achten dan die van Masaki!

VII. DE VERSPREIDING VAN DE INGEBRACHTE VIBRIONEN OVER DE VERSCHILLENDE ORGANEN

Steunend op de waarnemingen van Sanarelli betreffende het ,,gastro-enterotropisme'' van de choleravibrionen, verrichtte ook Masaki een reeks proeven, waarvan de resultaten in hoofdzaak met de eerste overeenstemmen.

Wáár ook in het lichaam ingebracht, steeds worden de vibrionen — en ook de verwekkers van de andere darmziekten, gelijk Besredka aantoonde — in den darmwand en later in den darminhoud aangetroffen. Het transport geschiedt langs de bloedbaan, van waaruit, direct na het verschijnen daarin, de afvloeiing naar de darmen begint.

Zoo spoot Sanarelli een jongen hond choleravibrionen in een ader en spoelde onmiddellijk daarna het rectum met peptonwater uit.

Den volgenden dag bleek dit nagenoeg een reincultuur van vibrionen te zijn (blz. 391).

Met het bloed, waarin door de vibrionicide werking van het serum wel tal van vibrionen te gronde zullen gaan, worden ze in verschillende organen afgezet, als galblaas, milt, lever, nieren, enz.; de plaats van selectie blijft echter de darmwand. Zoo vond bijv. Masaki na ± 10 uur bloed, gal, urine en peritoneaalvocht (na intra-peritoneale inspuiting) steriel, terwijl de vibrionen in den darm dagenlang in leven blijven.

Volgens Crendiropoulo[81] elimineeren normale konijnen de vibrionen uit den darm snel, en slechts bij verzwakking of laesies van den darmwand zouden ze er ook langer in voorkomen.

In chronisch verloopende gevallen vond Sanarelli ook in de maag vibrionen en daarbij steeds een alkalische reactie.

Ook Crendiropoulo kwam tot nagenoeg dezelfde resultaten. Offerde hij na 4 en 8 uur zijn intraperitoneaal ingespoten

konijnen op, dan vond hij steeds in duodenum, ileum en appendix vibrionen, in 3 van de 4 gevallen in bloed, gal, coecum en dikken darm, in 1 daarvan in de urine.

Na 48 uur bestond daarvoor geringe kans, terwijl hij na 3 × 24 uur geen vibrionen meer kon opsporen.

Ook bij mijn konijnen trachtte ik na den dood het lot van de ingebrachte vibrionen te volgen.

Het uitstrijkpreparaat van den darminhoud gaf meestal weinig bevredigende resultaten. Gewoonlijk lag het gezichtsveld vol met detritus en klompjes epitheelcellen, waartusschen vibrionen moeilijk en niet met zekerheid te herkennen waren.

De enting op bloedalkaliplaten volgens Dieudonné, gaf den volgenden dag geïsoleerde kolonies, die òf bacterioscopisch, òf door de oriënteerende agglutinatie volgens Flu als vibrionen herkend werden.

Vaak gaf de vóórcultuur in peptonwater positieve resultaten, waar de eerste methode in den steek liet; het omgekeerde werd nooit waargenomen.

De obductie en uitzaaiing werden zoo spoedig mogelijk na den dood verricht; volgens Masaki komt het als postmortaal verschijnsel wel voor, dat vibrionen uit den darm in peritoneaal vocht en bloed overgaan.

Beschouwen we nu eerst de verdeeling van de vibrionen in de organen van normale konijnen.

Konijn no. 302,
kreeg per sonde 10 c.M³. gal, daarna 1 agarcultuur 1624 intraveneus. Het stierf na een ziekte van 8 dagen.
Uitzaaiingen van galblaas, dunnen en dikken darm, rectum positief, van bloed, milt, maag, duodenum negatief.

Konijn no. 69,
kreeg 2½ agarcultuur 1624 intraveneus,
Stierf binnen 2 × 24 uur. Uitzaaiingen van bloed, galblaas, maag, duodenum, dunnen en dikken darm alle positief.

Konijn no. 66,
kreeg 2½ agarcultuur 1624 intraveneus. Stierf na 40 uur. Uitzaaiing van bloed negatief, van alle darmgedeelten positief.

Konijn no. 68,
kreeg 2½ agarcultuur 1624 intraveneus. Stierf binnen 18 uur. Uitzaaiingen van bloed negatief; van maag en alle darmgedeelten positief.

Konijn no. 65,
kreeg 3 agarculturen 1624 intraveneus. Stierf den volgenden morgen. Uitzaaiing van bloed negatief, van de verschillende darmgedeelten positief.

Konijn no. 313,
kreeg 0,5 agarcultuur 120 intraveneus, waarop het binnen 18 uur stierf. Slechts in den dunnen darm werden vibrionen gevonden.

Konijn no. 55,
kreeg 0,8 agarcultuur 120 intraveneus en stierf in ± 20 uur. Uitzaaiing van bloed en gal negatief, van dunnen darm positief.

Konijn no. 46,
kreeg 1 agarcultuur 120 intraveneus, werd den volgenden morgen dood gevonden. Uit de verschillende darmgedeelten konden vibrionen geïsoleerd worden.

Konijn no. 47,
kreeg 1 agarcultuur 120 intraveneus; stierf na 18 uur. In de galblaas en alle gedeelten van den dunnen darm en appendix werden vibrionen gevonden, in bloed, milt en dikken darm bleef de uitkomst negatief.

Konijn no. 400,
kreeg 1 agarcultuur 120 intraveneus en werd den volgenden morgen dood gevonden. Uitzaaiingen van galblaas, milt, duodenum, dunnen en dikken darm positief, van bloed negatief.

Konijn no. 401,
kreeg 0,5 agarcultuur 120 intraveneus. Na 4 uur werd het dier dood gevonden. Uit het bloed konden geen vibrionen worden gekweekt, zoomin als uit de verschillende darmgedeelten. Uitzaaiing van gal, milt, lever en appendix was positief.

Samenvattend komen we dus tot dezelfde resultaten als de genoemde auteurs.

In het bloed werden na 18 uur geen vibrionen meer aangetroffen behalve bij No. 69, die echter reeds geruimen tijd dood was vóór de obductie kon plaats hebben.

In de galblaas was dat in de onderzochte gevallen bijna steeds positief, ook in de verschillende gedeelten van den dunnen darm en den appendix. In den dikken darm waren slechts bij enkele konijnen geen vibrionen aanwezig; in het rectum werden ze slechts bij uitzondering gevonden en dan bij die dieren, waarbij

het verloop min of meer chronisch was. Ook het afschraapsel van den maagwand gaf slechts enkele malen positieve resultaten.

Van 4 konijnen werd de milt nagegaan en bij 2 ervan werden vibrionen aangetroffen.

Vragen wij ons nu af, wat gebeurt bij konijnen, aan wie meermalen vibrionen werden toegediend.

Masaki geeft daarvan geen voorbeelden.

Bij CANTACUZÈNE[82] vind ik een oude waarneming, reeds in 1894 gedaan, dat bij gevaccineerde cavia's de dunne darm vibrionicide werkt. Spoot hij subcutaan of intraperitoneaal geïmmuniseerde cavia's in de maag vibrionen, dan werden deze 3 uur na de inspuiting niet meer in den dunnen darm teruggevonden, terwijl dit bij normale dieren na 25 uur gemakkelijk gelukte. Hij leidt daaruit af, dat het darmweefsel zich geïmmuniseerd heeft en daardoor bactericide werking verkregen heeft.

Konijn no. 86,
kreeg 4-maal 2 agarculturen 1624 intraveneus, 2 dagen na de laatste inspuiting stierf het; alle uitzaaiingen bleven negatief.

Konijn no. 79,
kreeg de cultuur van 1 flesch van Roux intraveneus, 3 dagen daarna 2 agarculturen. Twee uur daarna werd het dood gevonden.

Uit het bloed, galblaas, dunnen en dikken darm konden vibrionen gekweekt worden.

In het eerste geval blijkt duidelijk de invloed van de voorafgegane inspuitingen, waardoor blijkbaar een verhoogde bactericide werking verkregen werd.

No. 79 bewijst het tegendeel niet; wel kunnen we eruit afleiden, dat 2 uur niet voldoende zijn om alle vibrionen te dooden; Cantacuzène gaf voor de cavia 3 uur aan.

Ook de langs oralen weg gevaccineerde konijnen leverden hiervoor duidelijke bewijzen.

Konijn no. 85,
kreeg 17-maal per os 1 flesch 1624. 1 dag na de laatste toediening kwam het ter obductie. Nòch in het bloed, nòch in de verschillende darmgedeelten, werden vibrionen gevonden.

Konijn no. 95,
kreeg 4 × 1 flesch gedoode 1624. Na de intraveneus toegediende doodelijke dosis bleek het niet immuun. Echter werden nergens — behalve in galblaas en duodenum — vibrionen aangetroffen.

Konijn no. 83,
kreeg per os 2-maal 10 c.M³. gal en 2 agarculturen 1624. 2 dagen na de laatste dosis stierf het, waarbij uitzaaiingen van bloed, gal en alle darmgedeelten negatief waren.

Konijn no. 198,
kreeg per os enkele malen gal en levende vibrionen. 1 dag na de laatste dosis bleken alle uitzaaiingen negatief.

Konijn no. 94,
kreeg per os 3 maal 10 c.M³. gal en 1 flesch vibrionen. 1 maand na de derde dosis stief het, waarbij nergens in het lichaam vibrionen aan te toonen waren.

Konijn no. 82,
kreeg 4-maal 1 c.M³. gal en $^1/_8$ flesch vibrionen. 1 week na de 4de dosis waren uitzaaiingen van bloed, gal en alle darmgedeelten negatief.

Al deze dieren, behalve No. 95, vertoonden hetzelfde: n.l. dat vóórbehandeling met vibrionen zonder of met rundergal, aan het lichaam — in het midden gelaten, aan welk orgaan dat gebonden zou zijn — een verhoogde bactericide kracht geeft.

Het gedrag van No. 95 is daarmee niet in strijd.

Bij verschillende konijnen, die toch immuun bleken te zijn, werden vibrionen in de galblaas aangetroffen, waar immuunstoffen of plaatselijke verweerkrachten er blijkbaar geen invloed op hebben, getuige het daar voorkomen bij bacillendragers, die al dan niet de ziekte doorstaan hebben.

Dat er met de afvloeiende gal dan vibrionen naar het duodenum gevoerd kunnen worden, is duidelijk. Theoretisch gesproken, behoeft er op het oogenblik van het onderzoek ook maar een enkele vibrio aanwezig te zijn om in peptonwater een welige cultuur te geven.

Hetzelfde verschijnsel werd aangetroffen bij konijnen, waarvan verwacht werd, dat zij de doodelijke dosis overleven zouden, zonder dat dit het geval bleek te zijn, t.w. No. 309, 78, 93 en 100.

Konijn no. 309,
kreeg 3-maal per os 2½ c.M³. gal en ¼ flesch vibrionen, later intraveneus een doodelijke dosis.
2 dagen daarna stierf het en gaf alléén in den appendix vibrionen te zien.

Konijn no. 78,
kreeg per os 11-maal 10 c.M³. gal en 1 flesch vibrionen, later intraveneus een doodelijke dosis.
Alle uitzaaiingen bleken negatief.

Konijn no. 93,
kreeg per os 9-maal 2½ c.M³. gal en ¼ flesch vibrionen, daarna intraveneus een doodelijke dosis.
Ook hier waren alle uitzaaiingen negatief.

Konijn no. 100,
kreeg per os 4-maal 10 c.M³. gal en 1 flesch gedoode vibrionen, waarna het de doodelijke dosis kreeg.
8 dagen daarna stierf het, waarbij alleen in de galblaas vibrionen gevonden werden.

Aangezien de contrôlekonijnen, voor deze reeksen gebruikt, No. 46 en 69 voor alle darmgedeelten positieve uitkomsten te zien gaven, treft dit verschil sterk.
Het voorkomen van vibrionen in den appendix van No. 309 vormt een uitzondering!

Om bovenstaande gegevens zuiverder te bevestigen en eventueele postmortale veranderingen uit te sluiten, tevens om te zien, in hoe korten tijd de ingebrachte vibrionen gedood worden, werden enkele geïmmuniseerde konijnen des morgens intraveneus ingespoten met een doodelijke hoeveelheid vibrionen, ½ agarcultuur No. 120, gesuspendeerd in 1 c.M.³ zoutsolutie. 4—5½ uur daarna werden deze dieren opgeofferd en onmiddellijk op vibrionen onderzocht, door darmafschraapsel op platen van Dieudonné uit te strijken, en door iets daarvan in peptonwater te brengen om dit den volgenden dag op Dieudonné-platen te verwerken.

Konijn no. 90,
doorstond na een ernstige ziekte een intraveneuze injectie van een groote dosis levende vibrionen, waarna het resistent bleek tegen een hernieuwde inspuiting.
5½ uur na een derde inspuiting werd het opgeofferd. Alleen in de galblaas werden direct en na aankweeken in peptonwater vibrionen aangetroffen. De uitzaaiingen van bloed, urine, maag, milt, duodenum, dunnen darm, appendix, dikken darm en rectum waren alle negatief.
Bij al deze proeven werd steeds een contrôle op de deugdelijkheid van de Dieudonné-platen genomen.

Konijn no. 301,
kreeg enkele maanden geleden 10 c.M³. rundergal per maagsonde en daarna 0,5 cultuur 120 intraveneus, wat het dier bestand maakte tegen een hernieuwde dosis. Ten derden male kreeg het een dosis — 0,5 cultuur in 1 c.M³. zoutsolutie— om 5 uur daarna opgeofferd te worden.

Alleen in de milt werden vibrionen gevonden.

Uitzaaiingen van bloed, gal, urine, maag, duodenum, dunnen darm, appendix, dikken darm en rectum waren negatief.

Konijn no. 424,
kreeg 4-maal per os 2 druppels crotonolie en daarna een plaatcultuur gedoode vibrionen, door middel van een spatel achter op de tong gebracht.

Een week na de laatste dosis kreeg het intraveneus een doodelijke dosis vibrionen, waarop het na 5 uur opgeofferd werd. Ook hier werden alléén in de milt vibrionen gevonden.

De uitzaaiingen van bloed, gal, urine, lever, maag, duodenum en overige gedeelten van den dunnen darm, dikken darm en rectum bleven negatief.

Konijn no. 328,
kreeg per os gal en vibrionen en enkele weken daarna tegelijk met een normaal konijn 0,5 cultuur 120 in 1 c.M³. zoutsolutie. Na 4 uur werd het opgeofferd. Slechts in milt en lever werden vibrionen gevonden, in alle andere onderzochte organen bleek het zoeken vergeefsch.

Samenvattend, kunnen we dus niet anders dan de oude waarneming van Cantacuzène volkomen bevestigen, niet alleen voor de intraveneus, doch ook voor de per os geïmmuniseerde dieren.

Opvallend is, dat in 3 van de 4 onderzochte milten na 4—5½ uur vibrionen gevonden werden, waar ze in het bloed ontbraken.

Wanneer we vibrionen, waarvan bekend is, dat ze zich snel naar den darm toe bewegen, in de bloedbaan inspuiten, en we vinden ze na een bepaalden tijd nòch in het bloed, nòch in den darmwand terug, dan moeten we aannemen, dat ze òf in het bloed, òf in den darm gedood worden.

Met het bloed worden de vibrionen in verschillende organen, voornamelijk in den darmwand, de milt, de lever en de galblaas, afgezet.

Zou dus de bactericide kracht in het bloed liggen, dan is het niet duidelijk, waarom in lever, galblaas en milt voorloopig nog levende vibrionen gevonden worden, terwijl in den darm slechts gedoode of niet-levenskrachtige vibrionen zouden worden afgezet.

Het vibrionicide vermogen moet dus in den darmwand liggen

en we zouden ons moeten voorstellen, dat het bloed daardoor a.h.w. afgefiltreerd wordt, en na korten tijd (in mijn proeven binnen 4 uur) bacterievrij wordt.

De in de andere organen afgezette vibrionen komen niet meer in de circulatie, maar zouden ter plaatse te gronde gaan na korter of langer tijd. Tallooze waarnemingen bewijzen, dat de galblaas in staat is — ook bij geïmmuniseerden — langen tijd pathogene darmbacteriën te herbergen.

Een ander bewijs voor de vibrionicide kracht van den darm vinden we in de oude proeven van Cantacuzène; deze spoot de vibrionen n.l. in de maag en niet in de bloedbaan en vond na 3 uur in den darm niets daarvan terug.

Deze waarneming zou een bewijs leveren voor de locale- of weefselimmuniteit in den zin van Besredka en tevens een voor de werkzaamheid van de vaccinatie per os, daar in den darm van de op deze wijze behandelde dieren géén vibrionen werden gevonden.

Enkele malen trachtte ik door middel van een kiemvrij filtraat van perssap uit deze darmen in vitro het bacteriedoodend vermogen aan te toonen (toevoegen van stijgende hoeveelheden aan jonge cholerabouillonculturen) wat echter steeds negatief uitviel.

Aan het slot van zijn studie komt Masaki tot de conclusie, dat de immuniteit bij cholera, evenals Besredka dat bewees voor typhus en dysenterie, in wezen locaal, intestinaal is, dit op grond van het feit, ,,qu'il n'y a aucune relation entre l'apparition de l'immunité et la présence d'anticorps dans le sérum''.

Om dit te bewijzen, formuleert hij 4 stellingen, die echter alle min of meer aanvechtbaar zijn. Weliswaar geven ze de uitkomsten van zijn proefnemingen weer en zijn dus als zoodanig niet te bestrijden, doch, wil men deze als algemeen bewijs voor de locale immuniteit aanhalen, dan moeten toch ook alle waargenomen feiten daardoor verklaard worden.

Als eerste punt zegt hij:

a. Les lapins, sensibilisés par la bile ou non, qui absorbent

des vibrions vivants ou morts, ne fabriquent pas d'anticorps préventifs.

Ook andere onderzoekers w.o. TCHITCHKINE[57] en GLOTOFF[77] vonden deze waarde gering, doch niet allen, zoo b.v. ZLATOGOROV, SAWTCHENKO en ZABOLOTNY[75].

Ook Besredka vond zoowel bij konijn en paard stoffen, die, bij andere dieren ingebracht, dezen een passieve immuniteit verleenen. Merkwaardigerwijze verdwenen die stoffen na de 2de toediening van het virus.

b. L'ingestion de bile, suivie de celle de cultures vivantes, fait apparaître des agglutinines; celles-ci, au lieu d'augmenter lors des nouvelles ingestions de vibrions, diminuent dans le sérum; puis elles finissent par en disparaître complètement.

Ware dit een algemeene wet, zij zou zeer sterk voor de locale immuniteit pleiten. Wij hadden echter gelegenheid op te merken, dat andere onderzoekers, o.a. KANAI[44] eer het tegendeel vonden, wat ook uit mijn proeven bleek.

c. L'ingestion de vibrions tués, chez les lapins sensibilisés, a pour effet de faire apparaître des agglutinines; cependant l'immunité fait chez ces animaux complètement défaut.

Glotoff en ook ik vonden na toedienen van gal en gedoode vibrionen agglutininen, zij het ook minder rijkelijk dan Masaki; beiden vonden wij, dat de aldus geïmmuniseerde dieren wèl resistent waren, wat ook in harmonie is met de analoge proeven van Besredka.

d. L'immunité per os n'apparaît que chez les lapins sensibilisés et ayant ingéré des cultures vivantes.

Onder *c* zagen wij reeds, dat niet alleen de met gal en levende culturen, doch ook de met gal en gedoode vóórbehandelde konijnen immuun waren.

VIII. DE INVLOED VAN GAL EN GEDOODE VIBRIONEN PER OS GEGEVEN OP HET ONTSTAAN VAN ANTISTOFFEN BIJ DEN MENSCH.

Om het nut van de enterogene vaccinatie bij den mensch na te gaan, bestaan er slechts 2 wegen: die van het experiment en de waarneming tijdens epidemieën.

Het lijkt mij niet geoorloofd, den mensch als proefobject voor zulke levensgevaarlijke ondernemingen te gebruiken. Proeven op zichzelf genomen, van hoe grooten moed en vertrouwen in hun arbeid ook getuigend, zijn te gering in aantal om veel bewijskracht te hebben.

Blijft dus over de zorgvuldig gecontrôleerde waarneming tijdens epidemieën, de jarenlang voortgezette vergelijking tusschen het aantal ziekte- en sterftegevallen onder niet- en wèlgevaccineerden, zoo mogelijk onder de per os en subcutaan geënten.

Door de bereidwilligheid van enkele personen uit mijn omgeving, werd ik in staat gesteld eenige proeven op den mensch te nemen met het vaccin, dat de Parijsche firma ,,La Biothérapie'' zoo vriendelijk was te mijner beschikking te stellen.

Deze konden geen ander doel hebben dan antwoord te geven op de vraag :

Wordt het vaccin, dat per os genomen wordt, ook geresorbeerd?

De contrôle daarop zou geleverd moeten worden door het al of niet verschijnen van antistoffen in het bloedserum. Besredka en anderen toonden aan, dat de hoeveelheid antistoffen geen maat voor de immunitiet is; de vraag naar de doeltreffendheid van deze methode kan dus op die manier niet opgelost worden.

Onder den naam ,,Bili vaccin'' worden door ,,La Biothérapie'' metalen doosjes in den handel gebracht, die een drietal gekera-

tineerde ossengalpillen en drie tabletjes bevatten, welke bestaan uit bacillen van Eberth, paratyphus A.- en B.-, resp. Shigabacillen of choleravibrionen.

Deze zouden samengesteld zijn uit het betreffende virus, bij een temperatuur van 65° gedood, daarna gedroogd, vermengd met melksuiker en tot tabletjes gecomprimeerd.

De methode van toepassen bestaat eenvoudig daarin, dat men drie achtereenvolgende dagen, op nuchtere maag, en wel één uur vóór het ontbijt een galpil inneemt en onmiddellijk daarna een pastille.

Uit een groot aantal gevallen bleek, dat tegen dit vaccin geen enkele contra-indicatie bestaat, en dat zoowel ouden van dagen als jonge kinderen, zwakken en zieken dit middel goed verdragen, terwijl slechts een enkele een lichte reactie in den vorm van temperatuursverhooging of diarrhee vertoont.

Mag men nu ook gelooven, dat de refractaire periode uiterst kort is, dat immuniteit reeds aan het einde van den derden dag is ingetreden en daarenboven zeer duurzaam is, dan zou men in deze methode het ideaal al zeer nabij gekomen zijn.

Wij zullen zien, wat experimenten en waarnemingen daaromtrent leeren.

Precies volgens voorschrift nam een aantal personen de galpillen en choleratabletjes in, waarna van tijd tot tijd in het bloedserum de agglutininen en bacteriolysinen bepaald werden. Voor deze laatste werd de techniek van Pfeiffer toegepast. Een druppel van het te onderzoeken serum werd gelijk met 1 c.M.^{3} bouillon, waarin 1 oogje van een virulente choleracultuur gesuspendeerd was, bij een cavia intraperitoneaal ingespoten. Dezelfde hoeveelheid, die binnen 24 uur zeker doodelijk werkte, werd zonder serum bij een contrôledier ingebracht. Na 15—30 en 60 minuten werd door middel van een fijn pipetje wat vocht uit de buikholte opgezogen en in het hangende druppelpreparaat op vibriolysis onderzocht.

De uitkomsten waren als volgt:

1. *P.P.* 4—XI agglutininen negatief.
Proef v. Pfeiffer: 100 mgr. serum, na 10 min. begin van vibriolyse,
na 30—40—60 min. sterker,
cavia volgenden morgen dood.

6, 7, 8—XI 's morgens op nuchtere maag een galpil en daarna een tabletje. Ondervond niet de minste bezwaren.
Agglutinatie en proef van Pfeiffer volgens tabel :

datum	12½	25	50	100	vibriolysis	cavia
4—XI.	—	—			100 mgr. +	dood
11—XI.	—	—			40 mgr. (+)	dood
15—XI.	+	+	(+)		40 mgr. (+)	dood
19—XI.	—	—			40 mgr. (+)	dood
23—XI.	(+)	—			40 mgr. (+)	dood
6—XII.	—	—			40 mgr. (+)	dood
11—XII.	—	—				
13—XII.	—	(+)			80 mgr. (+)	dood
17—XII.	+	—				
21—XII.	—	—			40 mgr. (+)	dood

Op 30—XI, 1 en 2—XII nog eens galpillen en choleratabletjes.
Evenals de eerste maal géén bezwaren.

2. *J. H.* 4—XII agglutininen negatief.
5, 6, 7—XII galpil en tabletje, geen bezwaren!
agglutininen: 12—XII negatief.
17—XII positief 25.
24—XII positief 25.
8— I negatief.

Proef v. Pfeiffer: 19—XII, 80 mgr., na 1 uur zoogoed als géén vibriolysis.
8—I, 40 mgr., nagenoeg géén vibriolyse; cavia dood.

3. *H.* 4—XII agglutininen positief 12½.
6, 7, 8—XII galpil en tabletje, geen bezwaren!
agglutininen: 12—XII positief (25).
17—XII positief (25).
24—XII positief (25).
8— I negatief.

Proef v. Pfeiffer: 19—XII, 80 mgr. na 1 uur sterke vibriolysis; cavia dood.
8— I, 40 mgr., na 1 uur alleen levende vibrionen, cavia dood.

4. *R.* 4—XII agglutininen: positief 12½.
Proef v. Pfeiffer: 40 mgr. serum, na 1 uur geringe vibriolysis, cavia dood.
7, 8, 9—XII galpil en tabletje, geen bezwaren!
agglutininen: 12—XII negatief.
17—XII positief 50.
24—XII positief 25.

Proef v. Pfeiffer: 13—XII, 80 mgr. serum, na 1 uur geen enkele levende vibrio; cavia blijft in leven.
19—XII, 10 mgr. serum, na 1 uur sterke vibriolysis, doch ook levende vibrionen; cavia blijft leven (doch ook de contrôle; bewijst dus niets).

5. *v. d. B.* 12—XII agglutininen negatief.
Proef v. Pfeiffer, 80 mgr. serum, na 1 uur zwakke vibriolysis, cavia dood.
13, 14, 15—XII galpil en tabletje; géén bezwaren!
agglutinatie: 21—XII positief 25 en (50).
8— I positief 12½.
Proef v. Pfeiffer: 8—I, 40 mgr. na 1 uur sterke vibriolysis, cavia volgenden morgen dood.

6. *Mej. A. H.* 12—XII agglutinatie negatief.
13, 14, 15—XII galpil en tabletje; géén bezwaren!
agglutininen: 21—XII positief 25.
8— I positief 12½.

Proef v. Pfeiffer: 8—I, 40 mgr., na 1 uur geen levende vibrionen te zien; cavia wordt den volgenden morgen dood gevonden.

7. *Mej. A. S.* 12—XII agglutinatie negatief.
14,15, 16—XII galpil en tabletje; géén bezwaren!
agglutininen: 21—XII positief 25.
8— I negatief.

Overzien we het zevental, dat zoo bereidwillig was zich aan mijn vaccinatieproeven te onderwerpen, dan blijkt het volgende:

Het innemen van het vaccin gaf niemand moeilijkheden en bezorgde aan geen van allen de minste bezwaren.

Bij alle personen, die met galpillen en choleratabletjes werden behandeld, kon een vermeerdering van agglutininen aangetoond worden, waaruit volgt, dat een gedeelte van het antigeen geresorbeerd werd.

Het serum van de proefpersonen vóór het innemen van het vaccin, evenals dat van enkele andere normale personen, agglutineerde den gebruikten cholerastam over het algemeen niet, behalve van No. 3 in de verdunning 12½.

No. 4 komt hierbij niet in aanmerking, daar deze ruim een jaar te voren tegen cholera was gevaccineerd door onderhuidsche inspuiting.

Na 4—6 dagen waren bij allen agglutininen aanwezig, echter nooit tot een hooge waarde: bij 4 personen in de verdunning

$^1/_{25}$, bij 2 uiterst zwak in $^1/_{50}$, bij een, No. 4, duidelijk in $^1/_{50}$.

Na een maand ongeveer waren de agglutininen echter verdwenen.

Een tweede dosis was niet in staat ze te voorschijn te roepen; bij No. 1 was er 11 dagen na de tweede reeks een flauwe aanduiding van te zien. In den zin van Besredka zou dit een bewijs voor de deugdelijkheid van de vaccinatie zijn.

De bacteriolysinen gaven geen goeden maatstaf.

Werkte 1 oogje van een 24 uur oude choleracultuur in 1 c.M.^{3} bouillon, bij de cavia intraperitoneaal ingespoten, binnen 24 uur doodend, het serum van de per os gevaccineerde personen vermocht haar daartegen niet te beschermen.

Wel was er een verschil in vibriolytisch vermogen vóór en na de proef en wel ten gunste van het laatste, zoodat men in het peritoneaal exsudaat, dat een uur na de inspuiting door middel van een fijn pipetje opgezogen werd, soms veel korrels vond en weinig levende vibrionen, doch daarvoor was 40—80 mgr. serum noodig, een hoeveelheid, die toch niet in staat was de cavia te beschutten.

Opmerkelijk was de reactie van No. 4.

Onder invloed van de vorige vaccinatie werden niet alleen de agglutineerende eigenschappen van het serum sterker, doch ook de bacteriolysinen. Bij toevoeging van 80 mgr. serum aan de bouillonsuspensie had een totale vibriolyse plaats, waarna de cavia bleef leven. Een hoeveelheid van 10 mgr. had een sterke werking, doodde echter niet alle vibrionen.

Het blijven leven van het proefdier mag hier niet als bewijs gelden, daar ook de contrôle — zonder serum — zich herstelde.

IX. DE INVLOED VAN GEDOODE VIBRIONEN, PER OS GEGEVEN, OP HET ONTSTAAN VAN ANTISTOFFEN BIJ DEN MENSCH.

Vragen wij ons nu af, of ook zonder toediening van galpillen een vermeerdering van agglutininen te verkrijgen is. Een zevental personen was zoo vriendelijk op 3 achtereenvolgende dagen een uur vóór het ontbijt een choleratabletje in te nemen.

De resultaten waren als volgt:

1. *Mevr. P.* 5—XI agglut. negatief. Proef v. Pfeiffer: 40 mgr. serum geeft geringe lysis, cavia dood.
   9, 10, 11—XI alléén tabletjes; geen bezwaren.
   Agglutininen op 16, 20, 24, 28—XI steeds negatief.
   Bacteriolyse op 20—XI en 13—XII negatief bij 40 mgr. serum.

2. *Mevr. V.* 20—II agglut. positief 25.
   21, 22, 23—II alléén tabletjes, geen bezwaren.
   Agglut. op 7 en 14—III positief 25.

3. *Mej. M. G.* 20—II agglut. positief 25.
   21, 22, 23—II alléén tabletjes, geen bezwaren.
   Agglut. op 7 en 14—III positief 25.

4. *v. G.* 20—II agglut. negatief.
   21, 22, 23—II alléén tabletjes, geen bezwaren.
   Agglut. op 7 en 14—III negatief.

5. *D.* 26—II agglut. positief 12½.
   27, 28, 29—II alléén tabletjes, geen bezwaren.
   Agglut. 7—III positief 12½, 14—III negatief.

6. *F.* 26—II agglut. positief 12½.
   27, 28, 29—II alléén tabletjes, geen bezwaren.
   Agglut. 10—III positief 12½.

7. *Sch.* 27—II agglut. negatief.
   28, 29—II, 1—III alléén tabletjes, geen bezwaren.
   Agglut. 7—III positief (25).
   14—III positief.

Overzien we deze uitkomsten, dan blijkt, in tegenstelling met de vorige proefreeks, dat na het toedienen van choleratabletjes zonder galpillen geen vermeerdering van agglutininen is waar te nemen. Een uitzondering hierop vormt No. 7, bij wien 2 maal een zwakke agglutinatie in de verdunning $^1/_{25}$ werd waargenomen.

Na de onbevredigende uitkomsten in de vorige reeks werd de proef van Pfeiffer achterwege gelaten.

Zien we dus onder invloed van een dosis gal de resorptie door den darmwand vermeerderen, noodzakelijk in alle gevallen schijnt deze factor niet te zijn.

Natuurlijk spelen hier tal van individueele invloeden een rol.

Ter vergelijking halen we hier uit de groote reeksen waarnemingen betreffende de antistoffen bij cholera-reconvalescenten, -dragers en gevaccineerden enkele aan, vooral uit den tijd, toen men nog meende in de antistoffen, in het bijzonder de bacteriolysinen, een maatstaf te hebben voor de immuniteit.

Bij *normale personen* werden als regel géén agglutininen gevonden.

De bacteriolytische titer, dit is de hoeveelheid serum, die nog juist beschermt tegen intraperitoneale inspuiting van 1 oogje virulente choleracultuur, bedraagt volgens KOLLE[83] 0,1—0,7 c.M.³. AASER[84] 0,75 c.M.³, NIJLAND[85] ± 0,5 c.M.³, waarden, die ook door anderen gevonden worden.

Bij 4 *gezonde vibrionendragers* vond van LOGHEM[86] sera, die hoogstens agglutineerden in verdunningen resp. van $^1/_{25}$, $^1/_{50}$, $^1/_{50}$, $^1/_{100}$.

Bij toevoeging van 50, ja van 5 mgr. serum, dus ± 0,05—0,005 c.M.³ had een sterke vibriolyse plaats, waardoor de caviae in leven bleven.

Onder *reconvalescenten* vonden SHIIBA en OYANA[87]:

bij Japanners agglutininen in de verdunning 80—640,

bij Chineezen in die van 40—160; slechts in 7 van de 97 gevallen bedroeg deze meer dan $^1/_{1000}$.

Wat betreft de bacteriolysinen, vonden ze bij Japanners $^1/_{12000}$—$^1/_{25000}$ c.M.³,

bij Chineezen $^1/_{6400}$—$^1/_{12000}$ c.M.³.

KOLLE en ook PFEIFFER[88] vonden dat gemiddeld bij $^1/_{100}$ c.M^3.

Voor *subcutaan gevaccineerden* zag Kolle bij 17 personen den titer tot 0,01—0,00015 c.M.^{3} stijgen. Begon de toeneming van de bacteriolysinen ± 5 dagen na de vaccinatie, na ± 6 maanden nam ze belangrijk af, behield echter een gemiddelde waarde van 0,01—0,05 c.M.^{3}

PAPAMARKU[89] zag bij 22 van 60 gevaccineerde soldaten een titer, die hooger was dan 0,01, bij de 38 overigen bleef deze lager.
Nijland vond waarden van 0,01—0,0005.
Ook anderen kwamen tot soortgelijke resultaten.

Voor per os gevaccineerde personen kon ik van de antistoffen geen opgaven vinden, alleen de mededeeling, dat bij personen, die gevaccineerd waren, een sterke toename van antistoffen aangetoond werd, die pas na ongeveer 9 maanden verdween. (VII Allrussischer Bakteriologen- und Epidemiologenkongresz)[90].
In tegenstelling daarmee vond ik slechts een geringe toename van agglutininen, die snel verdween; de grootte van de dosis zal hierop wel invloed gehad hebben.

Waar dus door het optreden van antistoffen in het bloedserum aangenomen mag worden, dat het bewijs voor de resorptie geleverd is, moeten we op één punt nader ingaan, n.l. het vooraf geven van galpillen.
Slechts door empirie, steunend op de uitkomsten in de proeven met konijnen verkregen, werd door Besredka de gal aan het vaccin toegevoegd, uitgezonderd bij dysenterie, waarbij ook de dierproef leerde, dat men zonder gal uitkwam.
In zijn „Revue critique" zegt CALMETTE[68] (blz. 911), dat het nut van gal voor mensch of kind twijfelachtig schijnt. In een darm, die dagelijks honderden grammen gal van de lever toegevoerd krijgt, zal die eene galpil de desquamatie niet veroorzaken, die Besredka voor zijn proefdieren noodig vond. 8 à 10 c.M.^{3} gal aan een konijn van ± 2500 gr. gegeven vertegenwoordigt een geweldige dosis; naar een gemiddelde van 60 K.G. voor den mensch omgerekend, zou dat nagenoeg 200 c.M.^{3} gal be-

teekenen, een hoeveelheid die bij ons behalve desquamatie van het darmepithelium nog wel andere bezwaren zou geven.

Naast de desquameerende werking van de gal schrijft Besredka haar beteekenis nog toe aan haar galdrijvend vermogen. Vinden wij voor Fel Tauri inspissatum als cholagogum een dosis van 0,5 tot 1,5 gram opgegeven, dan staat het te bezien, of van de 200 mgr. die de pil bevat, veel werking verwacht mag worden.

Mijn eigen proeven zijn te gering in aantal om hierin te beslissen, al lijkt het ook, dat aan de gal toch een zekere werking toekomt.

X. SLOTBESCHOUWINGEN.

Gaan we nu over tot de beantwoording van de vraag:

„Wat is het practische nut van al deze proeven?''

„Wat is de toekomst van deze nieuwe methode van vaccineeren?''

Men zal begrijpen, dat de tijd nog niet rijp is, om daarop een volledig antwoord te geven.

Vragen wij ons eerst af, of wij redenen hebben het tot nu toe gevolgde stelsel, onderhuidsche inspuitingen van gedoode culturen, te verlaten, kunnen wij er iets beters voor in de plaats geven ?

We zullen dit trachten te beantwoorden, door beide methoden achtereenvolgens te toetsen aan de eischen, die wij aan een vaccin moeten stellen.

1°. *De methode van vaccineeren moet zoo eenvoudig mogelijk zijn.*

Ingewikkeld is een subcutane injectie niet te noemen. Wel is waar is het een ingreep, die onder de noodige voorzorgen van steriliteit genomen dient te worden, doch zelfs waar groote aantallen menschen in korten tijd gevaccineerd moeten worden, is een eenvoudig te ontwerpen stelsel van arbeidsverdeeling voldoende om snelheid te verzekeren.

Gemakkelijker natuurlijk is het laten innemen van wat pilletjes en tabletjes, doch in dat gemak schuilt tevens een gevaar.

Bij de eerste methode heeft de medicus de contrôle in handen, bij de andere weet men niet of de doses ingenomen worden en of dat op de aangegeven wijze gebeurt.

Voor bepaalde groepen van menschen, b.v. de z.g. dwanggemeenschappen kan men dat doen, zooals ook Dubarry dit

liet verrichten, door de soldaten in het gelid te zetten, doch bij de vrije bevolking gaat dit bezwaarlijk en zou bovendien, doordat het 3-maal achtereen moet gebeuren, niet minder tijdroovend zijn dan de inspuitingen.

Voor de individueele behandeling dus zonder eenig bezwaar, zoomin als voor groepen, die onder een bepaalde tucht staan als: militairen, koelies, dwangarbeiders, verpleegden in gestichten, verplegend personeel, eventueel ook schoolkinderen, zou men dus voor de rest van de bevolking moeten volstaan met een onvoldoende contrôle, daarbij hopend, dat een doelmatig gevoerde propaganda of angst in tijden van epidemieën als machtige bondgenoot optreedt.

2°. *De plaatselijke en algemeene reacties, die na de inspuiting ontstaan, moeten zoo gering mogelijk zijn en geen gevaren met zich brengen.*

Uitgezonderd de vaccinatie tegen dysenterie is die tegen de andere darmziekten niet bijster pijnlijk of gevaarlijk.

Afhankelijk van individueele gevoeligheid, soort en aard van het gebruikte vaccin zijn de reacties van het lichaam op het ingebrachte virus meer of minder sterk.

Gewoonlijk treden enkele uren na de inspuiting op de plaats van injectie wat zwelling, roodheid, een gevoel van stijfte en pijn op, die meestal na 24 uur geheel of nagenoeg geheel verdwenen zijn. De algemeene reactie bestaat dan uit een gevoel van onbehagen en lichte temperatuursstijging, als regel niet hooger dan 38°.

De gevallen waarbij ernstiger reacties optreden zijn zeer zeldzaam. Hoe onbeteekenend over het algemeen de verschijnselen zijn, men moet er toch rekening mee houden, vooral waar het primitieve volkeren geldt.

Sterker, soms heftig zijn de reacties bij enting tegen dysenterie, al heeft men ook getracht door toepassing van bijzondere preparaten die verschijnselen te ontgaan.

Gezien de tallooze slachtoffers, die deze ziekte jaarlijks maakt, zou een betere methode hier een zegen voor de menschheid beteekenen.

Tegenover dit alles staat de vaccinatie langs enterogenen weg wel heel gunstig. De 15 maal dat ik het vaccin toediende, zag ik nooit eenige bezwaren.

Meerzeggend dan dit kleine aantal is het overzicht van VAILLANT[64].

Op 396 vaccinaties langs digestieven weg, te Bailleul-sur-Berthould nauwkeurig geadministreerd, vond hij:

lichte kolieken	15-maal.
1en dag lichte diarrhee	5-maal.
migraine	24-maal.
nausea	1-maal.

Ces légers malaises, dont la plupart seraient peut-être passés inaperçus, n'empêchèrent aucum des habitants vaccinés de vaquer à leurs occupations habituelles et de s'alimenter comme de coutume.

Les femmes enceintes ou ayant leurs époques, les malingres, ne subirent aucun trouble particulier. On peut donc affirmer que l'absorption de vaccin bilié per os est complètement inoffensive. Elle ne provoque aucune des réactions, parfois dramatiques, qu'entraînent les injections de T. A. B. sous la peau.

Dit alles zal deze methode vrienden verschaffen en zeker minder personen afschrikken, dan de subcutane.

Bovendien zal ze dáár aangewend kunnen worden, waar voor inspuitingen een contra-indicatie bestaat, bij zwakken, zieken en zwangeren.

3°. *De methode moet een zoo groot mogelijke zekerheid van bescherming geven.*

Het kan niet de bedoeling zijn, hier statistische bewijzen voor de efficientie van het gevolgde vaccineeringsstelsel te geven.

Hoe moeilijk het ook is in dit opzicht betrouwbare gegevens te verzamelen, er zijn er toch voldoende, die aanwijzen, dat het ingeënte deel van de bevolking veel minder wordt aangegrepen door de ziekte, en ook, dat het ziekteverloop onder hen gunstiger is.

Een absolute bescherming wordt door geen enkel stelsel verkregen; andere hygiënische maatregelen moeten dus met dezelfde kracht doorgevoerd en toegepast worden.

Deze waarnemingen te vergelijken met die, verkregen door vaccinatie per os gaat niet aan, omdat er te weinig betrouwbare gegevens bestaan.

Wat deze laatste betreft, uit de literatuur zijn enkele proeven en waarnemingen op grooter schaal bekend.

KLEMPERER[69], SAWTCHENKO en ZABOLOTNY[70] namen proeven op zichzelf en op anderen, waarbij groote hoeveelheden gedood virus per os genomen, hen beschutte tegen levend en virulent materiaal, METCHNIKOFF[71] bereikte daarentegen geen gunstige resultaten. ZLATOGOROV en SAWTCHENKO[75], die te voren ook gedood virus innamen bleken gevaccineerd tegenover cholera.

Met het oog op de dysenterie geven de proeven van NICOLLE en CONSEIL[47] waardevolle aanknoopingspunten; wel is waar vielen de proeven op Inboorlingen door bijkomstige omstandigheden niet gunstig uit, doch de proef op Europeanen is een mooie aanwijzing in die richting.

Waarnemingen op grooter schaal werden verricht door SHIGA[39], die vermeldde, dat in Japansche krankzinnigengestichten met veel succes langs digestieven weg tegen de heerschende dysenterie werd gevaccineerd.

DUBARRY[61] en andere Fransche clinici wendden met goed gevolg het entero-vaccin van Lumière aan, dat ook thans nog als ,,Produits spéciaux des Laboratoires A. Lumière'' te Parys wordt bereid.

Met het ,,Vaccin bilié'' van Besredka werden o.a. proeven genomen in N.-Frankrijk, waarvan die, door VAILLANT[64] beschreven, zeer bekend zijn, en waarvan de bijzonderheden op blz. 37 te vinden zijn.

Ook andere Inspecteurs van Fransche Departementen evenals Russische autoriteiten betuigen zich over dat middel zeer voldaan.

De waarnemingen door BESREDKA[65] in de Militaire School La Flèche gedaan, moeten volgens Calmette met voorzichtigheid

beoordeeld worden. Ook die van PIRIE en ORENSTEIN[66] zijn niet bewijzend.

Alles bijeengenomen is de voorgeschiedenis van de orale vaccinatie niet ongunstig te noemen.

Ook de dierproeven pleiten over het algemeen ten gunste.

Rekenen we hierbij niet alleen de konijnen, die na een krachtproef — een veelvoudige doodelijke dosis, intraveneus toegediend — resistent waren, doch ook de andere, die bewezen, dat de darmwand vibrionicide eigenschappen krijgt, o.a. na vaccinatie per os, wat toch zeker een belangrijk verweermiddel is te achten, dan is dat percentage niet gering.

4°. *De immuniteit moet snel intreden en zoo lang mogelijk duren.*

Vergelijking van beide methoden is daarom niet doenlijk, omdat de meeningen omtrent deze factoren bij de subcutane enting sterk uiteenloopen en bij de orale methode daarvan — behalve enkele waarnemingen in konijnenproeven — niets zekers bekend is.

Rest ons na dat alles nog de bespreking van de vraag: „Hoe staat het met de resorptie van het vaccin door den darmwand?" en juist hierin ligt het critieke moment!

Hoe vaak gaan pillen of tabletjes door het darmkanaal heen, zonder daar uiteen te vallen en worden onverteerd in de ontlasting teruggevonden? Hoeveel van de dosis wordt door het darmweefsel opgenomen?

Weten we bij subcutane injectie hoeveel millioenen of milliarden kiemen in het lichaam gebracht worden, bij orale toediening weten we dat zelfs bij benadering niet, en het is heel goed denkbaar, dat een bepaalde dosis den een beschermt, den ander onbeïnvloed laat.

Het is dus zeker noodig, dat een groote hoeveelheid herhaalde malen onder voor de resorptie gunstige voorwaarden ingenomen wordt. Of men deze laatste zal zoeken in het vooraf laten vasten en daarna toedienen van gemakkelijk te resorbeeren stoffen als melk en suikerwater, zooals Calmette aangeeft, zal de ervaring moeten leeren.

Hoe weinig analogieën er ook bestaan tusschen het voor gewone doses uiterst ongevoelige konijn en de door middel van groote hoeveelheden cultuur en gal gevaccineerde dieren eenerzijds en den mensch, die voor deze darmziekten juist heel gevoelig is, anderzijds, toch bewijzen de dierproeven, dat er een sterk verschil in individueele gevoeligheid bestaat, en tevens, dat het lichaam soms pas na verschillende doses met de vorming van antistoffen reageert.

Het is raadzaam deze gegevens voor den mensch over te nemen.

En wat de dierproeven in de eerste plaats waarschijnlijk maakt, is het feit, dat de darm het antigene karakter van het geresorbeerde bacterielichaam onaangetast laat, waardoor het vanuit den darm zijn werking kan ontvouwen.

De vorming van antistoffen bij den mensch bewijst hetzelfde.

Op grond van voorafgegane proeven en waarnemingen lijkt het mij gerechtvaardigd, aan te dringen op vaccinatie langs enterogenen weg bij hen, voor wie een contra-indicatie voor de subcutane methode bestaat, of bij hen, die weigeren zich op deze wijze te laten behandelen.

En in het bijzonder leent zich de methode voor vaccinatie tegen bacillaire dysenterie, waarbij de subcutane enting vanwege de heftige reacties nog steeds impopulair is en ook in de tropen zeer weinig prophylactisch wordt toegepast. Aldaar op groote schaal uitgevoerd, zou door zorgvuldige waarneming een deugdelijk bewijs voor haar waarde gezocht kunnen worden.

CONCLUSIES.

1. Het normale konijn is refractair tegenover groote doses levende of gedoode choleravibrionen, langs den weg van het darmkanaal toegediend; vooral het oppervlakkige darmbekleedsel speelt daarbij een voorname rol.

2. De toediening van rundergal verandert de plaatselijke omstandigheden zóó, dat het dier nu wel gevoelig wordt

en al naar gelang van de dosis sterft, ziek wordt of gezond blijft; in beide laatste gevallen meestal gepaard gaande met immuniteit, enkele malen met overgevoeligheid.

3. Het toedienen van rundergal en levende of gedoode vibrionen wordt als regel gevolgd door een meer of minder rijkelijke vorming van agglutininen.

Deze nemen onder invloed van herhaalde voederingen tot een bepaalde hoogte toe.

4. Levende of gedoode vibrionen alléén geven slechts in enkele gevallen aanleiding tot het ontstaan van antistoffen; de invloed van de gal schijnt zuiver plaatselijk te zijn.

5. Zoowel de met gal en levende, als de met gal en gedoode vibrionen vóórbehandelde dieren vertoonen immuniteit tegenover een doodelijke hoeveelheid levende vibrionen, intraveneus toegediend.

6. Bij de beoordeeling van de resultaten moet men rekening houden met allergische reacties, die in den vorm van anaphylaxie de vóórbehandelde dieren in korten tijd doen sterven.

7. Bij normale konijnen worden na intraveneuze injectie vibrionen in de verschillende darmgedeelten en vaak in de galblaas aangetroffen.

Nadat ze enkele malen intraveneus of per os behandeld zijn, worden als regel in den darm géén vibrionen gevonden.

8. Uit bovenstaand feit mogen we besluiten tot de bacteriedoodende kracht van den darmwand, onder invloed van vaccinatie ontstaan, en hierin een bewijs voor het nut van de enterogene vaccinatie en tevens voor het locaal karakter van de immuniteit zien.

9. Na het toedienen van galpillen en choleratabletten worden bij den mensch agglutininen en een aanduiding van bacteriolysinen gevonden, een bewijs dus voor de resorptie van het vaccin.

10. Van hoe groot belang het vooraf toedienen van rundergal aan de proefdieren ook moge zijn, voor den mensch is het nut daarvan nog niet aangetoond.

11. De vaccinatie langs enterogenen weg is eenvoudig toe te passen, geeft nagenoeg geen plaatselijke of algemeene reacties, treedt snel in en schijnt bij genomen proeven goed te voldoen.

De werkzaamheid berust naast tal van andere factoren op het feit, dat het geresorbeerd wordt, waardoor de zekerheid van deze methode niet volkomen is.

12. De tegenwoordige stand van het vraagstuk wettigt de opvatting, dat de „vaccinatie per os", onder bepaalde omstandigheden toegepast behoort te worden, t.w. tegen bacillaire dysenterie en bij contra-indicatie tegen of weigering van subcutane vaccinatie.

XI. LITERATUUROPGAVE.

1. Nikati u. Rietsch. Deutsche med. Woch. 1884.

2. R. Koch. Deutsche med. Woch. 1885.
Conferenz zur Erörterung der Cholerafrage.
Berl. klin. Woch. 1885. p. 37.

3. G. Sobernheim. Experimentelle Untersuchungen über Cholera-gift und Choleraschutz.
Zeitschr. f. Hyg. 1893. 14. p. 484.

4. J. Cantacuzène. Recherche sur le mode de destruction du V. cholérique dans l'organisme.
Paris 1894. p. 115.
geciteerd door G. Sanarelli, A.I.P. '19. p. 841.

5. G. Sanarelli. De la pathogénie du choléra (4e Mémoire) Ann. de l'Inst. Pasteur 1920, p. 988.

6. E. Metchnikoff. Recherches sur le choléra et les vibrions. Ann. de l'Inst. Pasteur 1893, p. 403.

7. Zabolotny. Centralbl. f. Bakt. 1894, p. 150.

8. E. Metchnikoff. Recherches sur le choléra et les vibrions (4e Mém.) Ann. de l'Inst. Pasteur 1894, p. 529.

9. Issaëff u. Kolle. Zeitschr. f. Hyg. und Inf. 1894.

10. O. Deggeller. Experimenteele „Vibrionendragers".
Geneesk. Tijdsch. v. Ned.-Ind. Dl. 51, afl. 4, blz. 441.

11. G. Sanarelli. Pathogénie du choléra.
La Presse médicale 1916, p. 505.

12. H. Pottevin et H. Violle. Transmission du choléra aux singes par la voie gastro-intestinale.
Bull. Soc. Pathol. exot. 1913, T. 6. p. 482.

13. J. Cantacuzène et A. Marie. Choléra gastro-intestinal chez le cobaye.
C. R. Soc. Biol. 1914, T. 76, p. 307.

14. M. Nasta. — Choléra expérimental chez des cobayes ayant reçu préalablement une injection de sérum entérolytique. C. R. Soc. Biol. 1914, T. 77, p. 177.

15. H. Violle. — Sur la pathogénie du choléra. C. R. Acad. des Sciences 1914, T. 158, p. 1710.

16. W. Kolle u. A. von Wassermann. — Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. 2e Aufl. Bd. III.

17. F. Loeffler. — Ueber Immunisierung per os. v. Leuthold-Festschrift, Bd. I.

18. K. Wolf. — Immunisierung per os. Münch. med. Woch. 1908, blz. 270.

19. Kutscher u. E. Meinicke. — Vergleichende Untersuchungen über Paratyphusenteritis- und Mäusetyphusbakterien und ihre immunisatorischen Beziehungen. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 52, blz. 301.

20. K. Shiga. — Ueber die aktive Immunisierung per os. Centralbl. f. Bakt. I Ref. Bd. 42, blz. 419.

21. Eijiro Yoshida. — Ueber Immunisierung per os. Archiv f. Hyg. Bd. 69, 1909, blz. 21.

22. G. Brückner. — Ueber orale Immunisierungsversuche. Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 8, 1911, blz. 439.

23. A. Lumière et J. Chevrotier. — Sur la vaccination antityphique par voie gastro-intestinale. C. R. Acad. d. Sc. T. 158. 1914, blz. 197.

24. J. Danysz et Z. Skrzynski. — Essais d'immunisation des petits rongeurs contre les paratyphiques naturellement pathogènes pour ces animaux. Ann. de l'Inst. Pasteur 1915, blz. 55.

25. M. Rubinstein. — La paratyphoide B. expérimentale. C. R. Soc. de Biol. T. 80. 1917, blz. 32.

26. A. Besredka et Mlle S. Bassèches. — Des virus sensibilisés. Vaccination antiparatyphique B. Ann. de l'Inst. Pasteur 1918, No. 5, blz. 193.

27. A. Besredka. De la fièvre paratyphoide B. expérimentale. Du mécanisme de l'immunité dans la paratyphoide B. De la vaccination par la voie buccale.
C. R. Acad. d. Sc. T. 167. 1918, blz. 212.
ibid. T. 168. 1919, blz. 1338.

28. Idem. Reproduction des infections paratyphique et typhique. Sensibilisation au moyen de la bile.
Ann. de l'Inst. Pasteur 1919, Aug. blz. 557.

29. A. Zingher and D. Soletsky. Proc. N.-York Pathol. Soc. 1920. 20. blz. 133.
Ref. Abstr. of Bact. 1921, blz. 428.

30. Ella M. A. Enlows. Vaccination by mouth against Mouse Typhoid.
Abstr. of Bact. 1923, No. 1, blz. 28.

31. K. W. Joetten. Fütterungsversuche mit Ruhr- und Typhusbazillen bei Hunden und kleinen Versuchstieren.
Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 51, 1918, blz. 200.

32. Th. Messerschmidt. Ueber das Vorkommen von Bakterien der Ruhrgruppe (Typus Y) in der Auszenwelt.
Deutsche med. Woch. 1912, No. 39.

33. W. J. L. Dake. Over dysenterie-achtige bacillen.
Proefschrift. Amsterdam 1919.

34. K. Shiga. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Bd. 24, 1895, blz. 916.

35. Flexner. Centralbl. f. Bakt. Abt. I, Bd. 30, 1901.

36. Gabritschewski u. Zeitlin. Gerefereerd in Centralbl. f. B. Ref. 1905, 36. p. 24.

37. Hida en Toyoda. Aktive Immunisierung per os.
Saikin-gaku-Zasshi 1907, No. 138.
Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. 42, 1909, p. 418.

38. F. Chvostek. Zur Frage der Immunisierung per os.
Wiener klin. Woch. 1908, No. 14. blz. 453.

39. K. Shiga. Ueber die aktive Immunisierung per os.
Saikin-gaku-Zasshi 1908, No. 138.
Centralbl. f. Bakt. Abt. I, Ref. Bd. 42. 1909, blz. 414.

40. Ch. Dopter. Vaccination préventive contre la dysenterie bacillaire (Ses bases expérimentales).
C. R. Soc. de Biol. 16 mai, 1908.
Ann. de l'Inst. Pasteur 1909, blz. 677.

41. A. Besredka. De la vaccination contre la dysenterie par la voie buccale.
C. R. Acad. d. Sciences T. 167. 1918. blz. 242.

42. Idem. Du mécanisme de l'infection dysentérique, de la vaccination contre la dysenterie par la voie buccale et de la nature de l'immunité antidysentérique.
Ann. de l'Inst. Pasteur 1919. no. 5. blz. 301.

43. Idem. Immunité générale par immunisation locale.
Bull. de l'Inst. Pasteur No. 12. 1922.

44. S. Kanai. Dysenteric Immunisation in rabbits by the oral and subcutaneous methods.
Brit. Jl. Experim. Path. 1921, Dec. blz. 256.

45. Idem. Further experimental studies of immunisation against B. dysenteriae (Shiga) and its toxins.
Brit. Jl. Experim. Path. 1922, 3, blz. 158.

46. Ch. Nicolle et E. Conseil. C. R. Acad. d. Sc. T. 174. mars 1922. blz. 724.

47. Idem. Vaccinations préventives par voie digestive chez l'homme dans la dysenterie bacillaire et la fièvre méditerranéenne.
Ann. de l'Inst. Pasteur, août 1922. blz. 579.

48. Cecil Robertson. The toxins of B. dysenteriae Shiga.
The Brit. med. Jl. Oct. 1922, blz. 729.

49. J. Dumas et D. Combiesco. L'intoxication dysentérique du lapin et l'intoxication cholérique du cobaye par ingestion de toxines dysentérique et cholérique solubles.
C. R. Acad. d. Sc. 1922. T. 175. blz. 652.

50. D. Combiesco, A. Maghern, G. Calalb. Vaccination préventive contre la dysenterie par la voie digestive chez le lapin.
C. R. Soc. Biol. 1923. p. 904.

51. Gaffky. Mitteil. a. d. Kais. Ges. Amt. Bd. 2. 1884.

52. P. Remlinger. Fièvre typhoide expérimentale par contamination alimentaire. Ann. de l'Inst. Pasteur 1897. blz. 829.

53. Chantemesse et Ramond. Soc. de Biol. 1897. blz. 719.

54. Wiener. Centralbl. f. Bact. 1903.

55. Mills. Brit. Med. Jl. 21—I—1911.

56. Seitz. Geciteerd in Kolle u. Wassermann III, p. 799.

57. A. Tchitchkine. De l'influence de l'ingestion des bactéries et des produits bactériens sur les propriétés du sérum sanguin. Ann. de l'Inst. Pasteur 1904, blz. 576.

58. E. Metchnikoff et A. Besredka. Recherches sur la fièvre typhoide expérimentale. Ann. de l'Inst. Pasteur 1911, blz. 193.

Idem. Des vaccinations antityphiques (IIe Mémoire). Ann. de l'Inst. Pasteur 1911, blz. 865.

59. J. Courmont et A. Rochaix. L'immunisation par voie intestinale. Vaccination antityphique. C. R. Acad. d. Sc. T. 152. 1911, blz. 797. ibid. blz. 1027.

60. A. Lumière et J. Chevrotier. Sur la vaccination antityphique par voie gastro-intestinale. C. R. Acad. d. Sc. T. 158, 1914, blz. 197. Soc. de Thérap. de Paris, Januari 1915.

61. J. P. Dubarry. Document sur la vaccination antityphoidique par la voie gastro-intestinale. C. R. Acad. d. Sc. T. 160, 1915, blz. 690.

62. A. Besredka. De la vaccination contre les états typhoides par la voie buccale. C. R. Acad. d. Sc. T. 168, 1919, 30 juin.

63. Idem. Ann. de l'Inst. Pasteur 1919. blz. 882.

64. L. Vaillant. Note sur l'emploi du vaccin bilié de Besredka par la voie buccale dans quelques foyers épidémiques du fièvre typhoide. Ann. de l'Inst. Pasteur 1922, No. 2. blz. 149.

65. A. Besredka. L'expérience de la Flèche. A propos de la vaccination anti-typhique. C. R. Soc. de Biol. 1923, 7 Juli, p. 366.

66. J. H. Harvey Pirie and A. J. Orenstein. Notes on the administration of Vaccine per os in an Outbreak of Enteric Fever. Gerefereerd in Trop. Dis. Bull. Vol. 20, no. 9, p. 747.

67. I. A. Dubinsky. Typhusvaccinatie per os. Geneesk. T. v. Ned.-Indië 1923, No. 1, p. 68.

68. A. Calmette. Revue critique. Les vaccinations microbiennes par voie buccale. Ann. de l'Inst. Pasteur. 1923. No. 10. p. 900.

69. Klemperer. Berl. klin. Woch. 1892, blz. 50.

70. Savchenko en Zabolotny. Wratch. 1893, blz. 572. Gecit. uit Kolle u. Wassermannn, 2e Aufl. III.

71. El. Metchnikoff. Recherches sur le choléra et les vibrions. Ann. de l'Inst. Pasteur 1893. id. 1894, blz. 529.

72. A. Besredka. De la vaccination contre le choléra. Bull. de l'Inst. Pasteur 1922, No. 1, 2, p. 1 et 41.

73. S. Masaki. Du mécanisme de l'infection cholérique et de la vaccination contre le choléra par voie buccale. Comptes-rendus de la Soc. de Biologie No. 10, 11 mars 1922, p. 532.

74. Idem. id. Ann. de l'Inst. Pasteur 1922, No. 5 mai, p. 399.

75. D. K. Zabolotny. The practice of anti-cholera vaccination per os. Hygiene and Epidem. Moscow 1922, Aug. Tropical Dis. Bull. 1923, No. 5, blz. 372.

76. Tarassevitch. Société des Nations. Renseignements épidémologiques. Genève. October 1922, Januari 1923.

77. E. Glotoff. De l'immunisation contre le choléra par voie buccale. C. R. Soc. de Biol. 1923, 7 Juli, blz. 368.

78. A. Besredka. Infection et vaccination par voie trachéale. Ann. de l'Inst. Pasteur 1920, p. 361.

79. G. Sanarelli. De la pathogénie du choléra (VIe Mémoire). Ann. de l'Inst. Pasteur 1922, No. 5.

80. S. Metalnikov. L'anaphylaxie et l'immunité. Ann. de l'Inst. Pasteur 1922, No. 9.

81. M. Crendiropoulo. Assainissement général, prophylaxie. Rapport concernant des expériences sur les porteurs de vibrions cholériques. Bull. Office Int. d'Hyg. Publique 1921, No. 3, p. 247.

82. J. Cantacuzène. Recherches sur le mode de destruction des vibrions dans l'organisme. Thèse de Paris 1894. Gecit. door Cantacuzène in Ann. de l'Inst. Pasteur 1920, p. 57.

83. W. Kolle. Deutsche med. Woch. 1897.

84. Aaser. Berlin. klin. Woch. 1910, No. 34.

85. A. H. Nijland. Vaccinatie tegen cholera. Geneesk. T. v. Ned.-Indië 1910, afl. 5, p. 610.

86. J. J. van Loghem. Versl. v. d. Oct. Vergad. v. d. Ned. V. voor Trop. Geneeskunde in den Haag 1910.

87. Shiiba and Oyama. Bacteriolytic and agglutination reaction of the sera obtained from convalescent cholera patients. Geref. in Trop. Dis. Bull. Vol. 17, No. 5, p. 405.

88. Pfeiffer. Zeitschr. f. Hyg. 16, 18, 19.

89. P. Papamarku. Beiträge zur Frage der Choleraimmunität bei Schutzgeimpften. Münch. med. Woch. 1917, No. 13, p. 425.

90. VII. Allrussischer Bakteriologen- und Epid. kongresz. Geref. in Arch. f. Sch. u. Tropen Hyg. 1924, H 1, p. 35.

91. F. Neri. Geref. in C. f. Bakt. Ref. Bnd. 74, p. 440.

STELLINGEN.

I.

Tusschen antistoffen en immuniteit bestaat geen verband van oorzaak en gevolg.

II.

In gevallen van abortus incompletus is de digitale behandeling boven de instrumenteele te verkiezen.

III.

Bij de diagnose rattepest houde men rekening met de pseudotuberculosis rodentium.

IV.

In geval van twijfel aan de genezing eener gonorrhoïsche infectie bij den man, trachte men gonococcen uit het sperma te kweeken.

V.

De z.g. carcino-sarcomen, die op den duur bij de teer- en entkanker-muizen ontstaan, berusten op metaplasie van het epitheel.

VI.

Voor alle lichamelijk, niet te zeer verzwakte lijders aan Dementia paralytica is de malaria-behandeling de beste therapie.

VII.

Bij het onderzoek der bevolking in een malaria-streek behooren personen van verschillende leeftijdsklassen onderzocht te worden.

VIII.

Een abortiefkuur bij patienten met primaire sero-negatieve lues is slechts geoorloofd na een nauwkeurig functioneel onderzoek van den nervus octavus.

IX.

Voor het verdelgen van ongedierte verdienen de gasvormige cyaan-verbindingen de voorkeur.

X.

De „vaccinatie per os" behoort op ruime schaal te worden toegepast.